

**Metabolische Phänotypisierung von Mausmutantenlinien
im Rahmen des metabolischen Labors
der Deutschen Mauselinik**

Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
(Dr. rer. nat.)

dem Fachbereich Biologie
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von
Nicole Ehrhardt
aus Marburg

Marburg/Lahn, 2008

Vom Fachbereich Biologie

der Philipps-Universität Marburg als Dissertation am angenommen.

Erstgutachter: Prof. Dr. Gerhard Heldmaier

Zweitgutachter: PD Dr. Martin Klingenspor

Tag der mündlichen Prüfung: 10.09.2008

Für Adrian

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
1.1 Von Mäusen und Menschen	3
1.2 Genotypen	4
1.3 Die Deutsche Mauslinik	6
1.4 Der metabolische <i>Screen</i> innerhalb der <i>GMC</i>	9
1.5 Ziele	10
 2 Material und Methoden	 11
2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen	11
2.1.1 Die MML HWE007	12
2.2 Der Primärscreen: Messungen zur Energieaufnahme	13
2.2.1 Käfigsetup	13
2.2.2 Futteraufnahme, Körpergewicht und rektale Körpertemperatur unter <i>ad libitum</i> Bedingungen	14
2.2.3 Die Futterreduktion	15
2.2.4 Sammeln und Aufbereiten der Kotproben	16
2.2.5 Bombenkalorimetrie	16
2.2.6 Berechnete Werte	17
2.2.7 Tierzahlen und Versuchsdurchführung	18
2.2.7.1 Messungen unter <i>ad libitum</i> Bedingungen	18
2.2.7.2 Messungen unter Futterreduktion	19
2.3 Der Sekundärscreen: Messungen zum Energieverbrauch	20
2.3.1 Indirekte Kalorimetrie	20
2.3.1.1 Aufbau der indirekten Kalorimetrie	20
2.3.1.2 Kalibrierung der Gasanalysatoren	22
2.3.1.3 Messwerterfassung	23
2.3.1.4 Berechnete Parameter	23
2.3.2 Telemetrie	24
2.3.2.1 Vorbereitung der Sender	24
2.3.2.2 Kalibrierung	25
2.3.2.3 Implantation	25
2.3.2.4 Messwerterfassung	26

2.3.3 Tierzahlen und Versuchsdurchführung	27
2.3.3.1 Bestimmung des Basalstoffwechsels	27
2.3.3.2 Bestimmung des täglichen Energieverbrauchs	28
2.4 Der Tertiärscreen: Bestimmung der Körperzusammensetzung	29
2.4.1 Soxhlet Methode	29
2.4.2 Berechnete Parameter	31
2.4.3 Tierzahlen	31
2.5 Der intraperitoneale Glukose-Toleranz-Test	32
2.5.1 Tierzahlen und Versuchsdurchführung	32
2.6. Klinische Chemie und Hämatologie	33
2.6.1 Versuchsdurchführung	33
2.6.1.1 Bestimmung der klinisch-chemischen Parameter	33
2.6.1.2 Bestimmung der hämatologischen Parameter	35
2.6.2 Tierzahlen	35
2.7 Statistik	36
 3 Ergebnisse.....	 37
3.1 Metabolische Phänotypisierung von Inzuchtlinien	37
3.1.1 Körpergewicht	37
3.1.2 Metabolisierte Energie	39
3.1.3 Assimilationseffizienz	45
3.1.4 Rektale Körpertemperatur	47
3.1.5 <i>Challenge</i> durch chronischen Futterreduktion	50
3.2 Der Primärscreen des metabolischen Labors als Werkzeug zur Detektion metabolischer Phänotypen	57
3.2.1 Das Körpergewicht	57
3.2.2 Der Parameter metabolisierte Energie	62
3.2.3 Der Parameter Körpertemperatur	64
3.2.4 Metabolischen Phänotypen unter <i>ad libitum</i> Bedingungen	69
3.2.5 Metabolische Phänotypen unter Futterreduktion	70
3.2.6 Die Futterreduktionsregime im Vergleich	77
3.2.7 Reproduzierbarkeit der Daten	83
3.2.8 Bestätigung bereits bekannter Phänotypen	84

3.3 Der metabolische Screen am Beispiel der MML HWE007	86
3.3.1 Das Körpergewicht	86
3.3.2 Analyse der Körperzusammensetzung	87
3.3.3 Bestimmung der Energieaufnahme	88
3.3.4 Bestimmung des Basalstoffwechsels	93
3.3.5 Bestimmung des Energieverbrauchs	94
3.3.6 Die Glukoseclearance	102
3.3.7 Klinische Chemie	104
4 Diskussion.....	107
4.1 Die Inzuchtlinien: Eine metabolische Charakterisierung als Basis einer erfolgreichen Phänotypisierung von Mausmutantenlinien	108
4.1.1 Inzuchtlinien unter <i>ad libitum</i> Bedingungen	110
4.1.1.1 Körpergewichte	110
4.1.1.2 Absolutwerte der metabolisierten Energie	110
4.1.1.3 Statistische Verfahren zum Vergleich körperlsgewichtsabhängiger Parameter	111
4.1.1.4 Metabolisierte Energie unter Berücksichtigung der Körpergewichtsunterschiede	113
4.1.1.5 Die Körpertemperatur als Maß der Thermogenese	113
4.1.1.6 Die Varianz innerhalb der Inzuchtlinien	115
4.1.2 Inzuchtlinien unter Futterreduktion	115
4.2 Die Mausmutantenlinien: Die Suche nach metabolischen Phänotypen im Rahmen der primären Phänotypisierung des metabolischen Screens	117
4.2.1 Grundsätzliche Überlegungen zur zuverlässigen Detektion von Phänotypen in Mausmutantenlinien	117
4.2.2 Die Mausmutantenlinien unter <i>ad libitum</i> Bedingungen	119
4.2.2.1 Die veränderten Parameter	119
4.2.2.2 Die metabolischen Phänotypen	121
4.2.3 <i>Challenge</i> -Experimente: 40 % oder 100 % - ein Vergleich der beiden Futterreduktionsregime	122
4.2.3.1 Die Bedeutung von <i>Challenge</i> -Experimenten	122
4.2.3.2 Die Definition des Begriffs 'Futterreduktion'	123
4.2.3.3 Die chronische Futterreduktion	123
4.2.3.4 Die akute Futterreduktion	126
4.2.3.5 Der Vergleich der Futterreduktionsregime	130

4.2.4 Bestätigung bekannter Phänotypen und Reproduzierbarkeit der erhobenen Daten	132
4.3 Eine umfassende metabolische Charakterisierung der übergewichtigen MML HWE007	133
4.3.1 Schwere Mäuse = fette Mäuse?	133
4.3.2 Fett – nur ein Energiespeicher?	134
4.3.3 Wie entsteht Übergewicht?	136
4.3.4 Übergewicht als Risikofaktor für Typ-2-Diabetes	138
4.3.5 Die Blutwerte	139
4.3.5 HWE007 – eine Modelllinie für die Adipositasforschung?	141
 5 Zusammenfassung.....	142
 6 Literaturverzeichnis.....	146
 7 Anhang.....	159

Abkürzungsverzeichnis

ALT	<u>A</u> lanin-Aminotransferase
ANCOVA	Kovarianzanalyse (engl. <i><u>a</u>nalysis of <u>c</u>ovariance</i>)
ANOVA	Varianzanalyse (engl. <i><u>a</u>nalysis of <u>v</u>ariance</i>)
AST	<u>A</u> spartat-Aminotransferase
BAT	braunes Fettgewebe (engl. <i><u>b</u>rown <u>a</u>dipose <u>t</u>issue</i>)
BM	Körpergewicht (engl. <i><u>b</u>ody <u>m</u>ass</i>)
BM _C	Gewicht der Karkasse (engl.: <i><u>c</u>arcass</i>)
BM _{Filter}	Gewicht der Karkasse im Filerpapier
BM _{Filter,dry}	Gewicht der getrockneten (engl.: <i><u>d</u>ry</i>) Karkasse im Filerpapier
BM _{Filter,fatfree}	Gewicht der getrockneten Karkasse im Filerpapier nach der Fettextraktion (fettfrei, engl.: <i><u>f</u>at<u>f</u>ree</i>)
BMR	Basalstoffwechsel (engl. <i><u>b</u>asal <u>m</u>etabolic <u>r</u>ate</i>)
DEE	Tagesenergieverbrauch (engl. <i><u>d</u>aily <u>e</u>nergy <u>e</u>xpenditure</i>)
E _{ass}	assimierte Energie (engl.: <i><u>e</u>nergy <u>a</u>ssimilation</i>)
E _{fec}	Energiegehalt des Kots (engl.: <i><u>e</u>nergy content of <u>f</u>eces</i>)
E _{met}	metabolisierte Energie (engl.: <i><u>m</u>etabolized <u>e</u>nergy</i>)
F _{ass}	Assimilationseffizienz (engl.: <i><u>f</u>ood <u>a</u>ssimilation</i>)
E _{up}	Energieaufnahme (engl.: <i><u>e</u>nergy <u>u</u>ptake</i>)
Fec	Kotproduktion (engl.: <i><u>f</u>eces production</i>)
F _{up}	Futteraufnahme (engl.: <i><u>f</u>ood <u>u</u>ptake</i>)
FFDM	fettfreie Trockenmasse (engl.: <i><u>f</u>at <u>f</u>ree <u>d</u>ry <u>m</u>ass</i>)
FFM	fettfreie Masse (engl.: <i><u>f</u>at <u>f</u>ree <u>m</u>ass</i>)
FM	Fettgehalt (engl.: <i><u>f</u>at <u>m</u>ass</i>)
GMC	Deutsche Mauslinik (engl.: <i><u>G</u>erman <u>M</u>ouse <u>C</u>linic</i>)
HDL	<i><u>h</u>igh <u>d</u>ensity <u>l</u>ipoprotein</i>
HP	Wärmeproduktion (engl. <i><u>h</u>eat <u>p</u>roduction</i>)
HWE007	übergewichtige Mausmutantenlinie (engl.: <i><u>h</u>eavy <u>w</u>eight</i>)
IVC	Haltungsform (engl. <i><u>i</u>solated <u>v</u>entilated <u>c</u>ages</i>)
LDL	<i><u>l</u>ow <u>d</u>ensity <u>l</u>ipoprotein</i>
LSM	<i><u>l</u>east <u>s</u>quare <u>m</u>eans</i>
MLL	<u>M</u> aus <u>m</u> utanten <u>l</u> inie
MW	<u>M</u> ittel <u>w</u> ert

MR	Stoffwechselrate (engl. <u>m</u> etabolic <u>r</u> ate)
NGFN	<u>N</u> ationales <u>G</u> enom <u>f</u> orschungs <u>n</u> etzwerk
NST	zitterfreie Wärmebildung (engl. <u>n</u> on <u>s</u> hivering <u>t</u> hermo <u>g</u> enesis)
RMR	Ruhestoffwechsel (engl. <u>r</u> esting <u>m</u> etabolic <u>r</u> ate)
RQ	<u>R</u> espiratorischer <u>Q</u> uotient
S.E.M.	Standardfehler (engl.: <u>s</u> tandard <u>e</u> rror of <u>m</u> eans)
SOP	standardisierte Versuchsanleitung (engl. <u>s</u> tandard <u>o</u> perating <u>p</u> rocedure)
T _{b,rec}	rektale Körpertemperatur (engl.: <u>r</u> ectal <u>b</u> ody <u>t</u> emperature)
TNZ	<u>T</u> hermo <u>n</u> eu <u>r</u> al <u>z</u> one
UCP1	Entkopplerprotein (engl. <u>u</u> ncoupling <u>p</u> rotein)
vs.	gegen (lat. <u>v</u> ers <u>u</u> s)
WAT	weißes Fettgewebe (engl. <u>w</u> hite <u>a</u> dipose <u>t</u> issue)
WC	Wassergehalt (engl.: <u>w</u> ater <u>c</u> ont <u>e</u> nt)

1. Einleitung

Übergewicht und Adipositas haben sich im Laufe der letzten Jahre besonders in den Industrienationen zu einem der bedeutendsten Gesundheitsprobleme entwickelt. 10 bis 40 % der erwachsenen europäischen Gesamtbevölkerung werden als übergewichtig bzw. adipös eingestuft (Astrup 2001), wobei Übergewicht durch einen Body Mass Index ($\text{BMI} = \text{Körpergewicht} \cdot \text{Körpergröße}^{-2}$) ab 25 kg m^{-2} und Adipositas durch einen BMI ab 30 kg m^{-2} definiert wird (Hauner et al. 2006; WHO 2006).

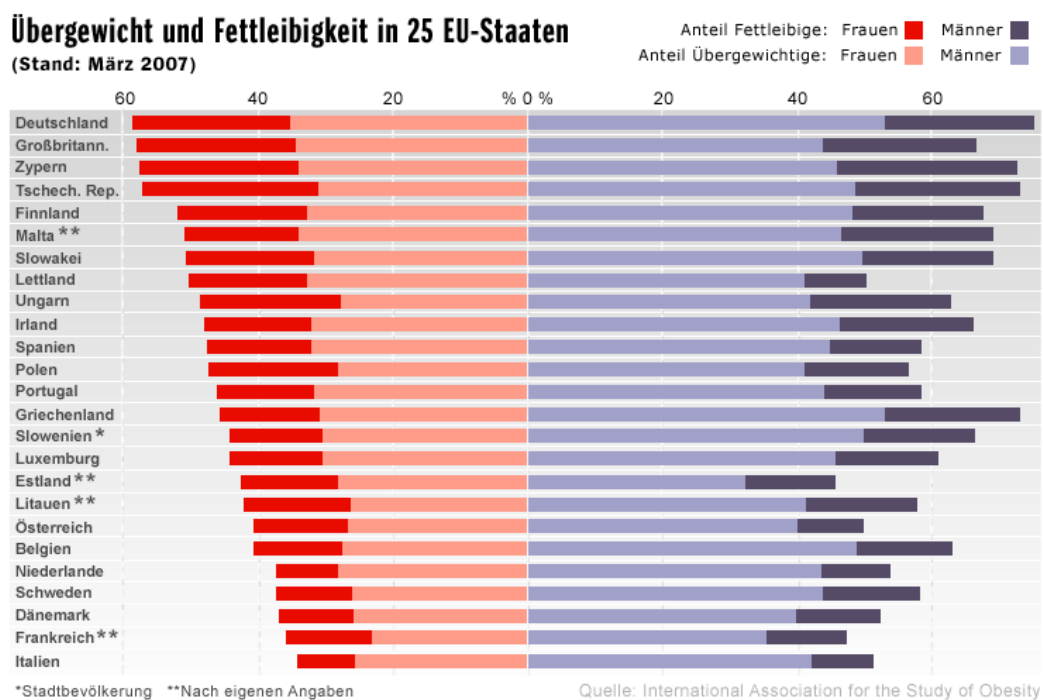


Abb. 1:
Übergewicht und Fettleibigkeit in 25 EU-Staaten

Quelle: <http://www.iaso.org>

Ein Blick in die USA zeigt einen drastischen Anstieg der über 20jährigen, die einen BMI von über 30 kg m^{-2} aufweisen. Lag der Prozentsatz 1960 noch bei 13%, stieg er in den darauf folgenden Jahren bis 1994 auf 23-30% an (Schrauwen und Westerterp 2000; Dhurandhar 2001). Die Weltgesundheitsorganisation geht davon aus, dass im Jahre 2015 weltweit bereits 2.3 Milliarden Erwachsene übergewichtig und davon 700 Millionen Erwachsene adipös sein werden (WHO 2006).

Der Entstehung von Übergewicht liegen Funktionsstörungen innerhalb der Regelmechanismen zugrunde, die für eine ausgeglichene Bilanz von Energieaufnahme und Energieverbrauch verantwortlich sind. Hierdurch entsteht ein Ungleichgewicht in der

Energiebilanz, wie es beispielsweise bei zu energiereicher Ernährung und gleichzeitig unzureichender physischer Aktivität auftritt (Matsuzawa et al. 1995; Schrauwen und Westerterp 2000; Astrup 2001; Dhurandhar 2001; Baillie-Hamilton 2002; Popkin und Nielsen 2003).

Ein weiterer interessanter Aspekt in Hinsicht auf die Entwicklung von Adipositas ist die Bedeutung genetischer Einflussfaktoren, da nicht alle Menschen, die sich sehr energiereich ernähren, zwangsläufig auch unter Übergewicht leiden und umgekehrt (Lönngqvist et al. 1999). Weiterhin wurde 1962 die „Hypothese des sparsamen Genotyps“ publiziert (*Thrifty-genotype hypothesis*; Neel 1962; Swinburn 1996; Sharma 1997), nach der eine maximale metabolische Effizienz in Zeiten der Nahrungsknappheit von Vorteil ist, in Zeiten des Überflusses jedoch eine genetische Prädisposition für Übergewicht darstellt.

Übergewicht und Bewegungsmangel lassen das Diabetesrisiko um das fünffache ansteigen (Albu und Raja-Khan 2003) und gelten als Risikofaktoren für die Entstehung des Metabolischen Syndroms (Grundy 2008). Im Jahre 2006 litten bereits 20-25% der erwachsenen Weltbevölkerung am Metabolischen Syndrom, einem Cluster von Krankheitssymptomen, das Übergewicht, Diabetes, einen erhöhten Cholesterinspiegel und Bluthochdruck einschließt und somit die größten Risikofaktoren für das Auftreten eines Herzinfarkts oder eines Schlaganfalls in sich vereint. Die der Entstehung des Metabolischen Syndroms zugrunde liegenden Faktoren konnten bisher noch nicht lückenlos aufgeklärt werden, es wird jedoch als sicher erachtet, dass sowohl Übergewicht als auch Diabetes eine tragende Rolle spielen (International Diabetes Federation 2006; Joffe und Yanagisawa 2007).

Zusätzlich zu den bereits genannten Symptomen stehen mit Adipositas auch Krankheitsbilder wie Bluthochdruck, Gallensteine, Osteoarthritis, Stoffwechselstörungen, Schlafstörungen, Atembeschwerden und Erkrankungen des Bewegungsapparates in Zusammenhang (Kopelman 2000; Wyatt et al. 2006). Neben einer Einschränkung der Lebensqualität der Betroffenen führen Adipositas und ihre Begleiterscheinungen auch zu einer erheblichen finanziellen Belastung der Gesellschaft (Kopelman 2000; Heseker und Schmid 2000; Ganz 2003).

Obwohl das Augenmerk der Öffentlichkeit vermehrt auf der Problematik des Übergewichts liegt, ist auch Untergewicht ein ernstzunehmender gesundheitlicher Risikofaktor. Ein Beispiel hierfür sind Magersucht (Exner et al. 2000; Hebebrand et al. 2003) und

bestimmte Krebsarten, die aus weitgehend ungeklärten Gründen zu einer negativen Energiebilanz führen und Patienten kachektisch werden lassen (Giacosa et al. 1996; Agustsson et al. 2007).

1.1 Von Mäusen und Menschen

Klinische Studien zur Entstehung von Krankheiten werden oft von schwer zu kontrollierenden Faktoren begleitet. Besonders Einflüsse der Umwelt oder des sozialen Umfeldes eines Patienten erschweren ein standardisiertes Vorgehen. Auch die Verlässlichkeit der Angaben, die ein Patient zu seinem Krankheitsbild macht, ist in manchen Fällen fraglich. So wurde beispielsweise die Klärung eines Zusammenhangs zwischen Ernährung und Adipositas durch die Tatsache erschwert, dass befragte adipöse Patienten eine um bis zu 30% zu niedrige Nahrungsaufnahme angaben, was die Erhebung korrekter Messwerte zur Erfassung der Energieaufnahme verkomplizierte (Lichtman et al. 1992). Nicht zuletzt können viele unerlässliche Untersuchungen aus ethischen Gründen nicht am Menschen durchgeführt werden.

Alle genannten Aspekte machen die Verwendung geeigneter Tiermodelle zur Erforschung der physiologischen und pathologischen Ursachen menschlicher Krankheiten unerlässlich (Calcott 2004).

Einen besonders gut geeigneten Modellorganismus zur funktionellen Aufklärung des menschlichen Genoms stellt die Maus (lat. *Mus musculus*) dar (Nadeau et al. 2001; O'Brien and Woychik 2003; Nobrega and Pennacchio 2004). Eine kurze Reproduktionszeit und eine hohe Anzahl an Nachkommen machen die Maus zu einem interessanten Versuchstier, das zudem kostengünstig und Platz sparend unter Standardbedingungen im Labor gehalten werden kann (Moore 1999). Ein weiterer Vorteil dieses Versuchstiers begründet sich in einer über 90%igen genomischen Übereinstimmung zum Menschen (Austin 2004).

Im Zusammenhang mit der Gewichtsregulation wurden bereits einige Mausmodelle etabliert. Während schon 1971 adipositasbezogene Mausmodelle von Stauffacher et al. nach der Art ihrer Vererbung in drei Gruppen eingeteilt wurden (1. Einzel-Gen-Mutanten, 2. Inzuchtstämme und Hybride, 3. Komponenten der Vererbung die von

Umweltfaktoren beeinflusst werden) beschränkte sich Festing 1979 auf eine Unterscheidung zwischen Adipositas, die durch eine Einzel-Gen-Mutation hervorgerufen wird, und Adipositas, die durch polygenetische Faktoren verursacht wird.

Zu den wichtigsten und bekanntesten natürlich auftretenden Einzel-Gen-Mutationen (Übersicht siehe Perusse et al. 1999) zählen die *obese* (ob) und die *diabetes* (db) Mutation (Coleman 1978, Zhang et al. 1994, Tartaglia et al. 1995). Die *obese* Mutation trat beispielsweise spontan in einem Mausstamm der Jackson Laboratories auf und wurde 1950 erstmals von Ingalls erwähnt. Bei der Identifikation des *obese*-Gens wurde 1994 das Hormon Leptin entdeckt, das von den Fettzellen sezerniert wird und beispielsweise an der Regulation des Hungergefühls beteiligt ist (Zhang et al. 1994). Auch die Funktion des MC4-Rezeptors, dessen Funktionsstörung zu Hyperphagie führt, wurde an der Maus aufgeklärt (Adan et al. 2006). Bekannte Beispiele für die polygenetisch bedingte Entstehung von Adipositas sind die New Zealand und die Wellesley Stämme (West and York 1998).

1.2 Genotypen

Die Ursachen für die Entstehung vieler menschlicher Krankheiten sind immer noch weitgehend unbekannt. Sowohl auf genomischer als auch auf phänotypischer Ebene besteht folglich ein großer Forschungsbedarf, um sowohl die physiologischen als auch die pathologischen Ursachen menschlicher Krankheiten aufklären zu können.

Nachdem im Jahr 2001 die Entschlüsselung des menschlichen Genoms abgeschlossen wurde (Lander et al. 2001; Venter et al. 2001), steht nun die Aufklärung der Funktion der einzelnen Gene und Proteine im Vordergrund. Der Schwerpunkt liegt hierbei auf der funktionellen Analyse derjenigen Gene, die für die Diagnose, Prävention und nicht zuletzt für die Therapie menschlicher Erkrankungen von Interesse sind.

Hier kommt der größte Vorteil, den die Maus dem Menschen gegenüber zu bieten hat, zum Tragen: die Möglichkeit, in sein Genom eingreifen und mittels gentechnischer Verfahren Manipulationen von Kandidatengenen vornehmen zu können. Auf diese Weise können die Auswirkungen der herbeigeführten genetischen Mutationen auf den Phänotyp direkt gemessen werden (Hrabé de Angelis 2000).

So genannte Inzuchtlinien, die über Generationen durch die Verpaarung von Geschwistertieren hergestellt wurden, bieten den Vorteil eines isogenen Genoms. Individuen, die der selben Inzuchtlinie angehören, sind genetisch identisch und nahezu 99 % ihrer Loci sind homozygot (Beck et al. 2000). Eine Mausekohorte, deren Individuen derselben Inzuchtlinie entstammen, weist somit immer eine größere Homogenität auf, als eine Kohorte von Tieren, die keiner gemeinsamen Inzuchtlinie entstammen. Die genetische Gleichheit ist Voraussetzung für eine qualitativ hochwertige Phänotypisierung, da nur ein homogener genetischer und phänotypischer Hintergrund einen verlässlichen Rückschluss von einer phänotypischen Besonderheit auf das manipulierte Gen zulässt.

Die homogenen Inzuchtlinien bilden die Basis für die Anwendung gentechnischer Methoden zur Manipulation des Mausgenoms. Die Mutagenesemethodik bietet zwei grundlegende Ansätze: den gengesteuerten (*gene-driven*) und den phänotypgesteuerten (*phenotype-driven*) Ansatz.

Dem gengesteuerten Ansatz liegt eine Hypothese zugrunde, aufgrund derer ein Gen mit bekannter Funktion (z. B. der MC4-Rezeptor, siehe 1.1) durch homologe Rekombination in embryonalen Stammzellen gezielt manipuliert wird (Goldstein 2001). Die Auswirkungen dieser Manipulation im Genom der mutanten (genveränderten) Tiere wird dann durch den Vergleich mit nicht mutanten Geschwistertieren untersucht (Chen et al. 2005). Dieser hypothesenbasierte genorientierte Ansatz bietet also die Möglichkeit, die Funktion bereits bekannter Gene zu analysieren. Nachdem seit Beginn der 80er Jahre des zwanzigsten Jahrhunderts die homologe Rekombination den Vorreiter dieser Methode darstellte, kamen im Laufe der Zeit weitere gentechnische Methoden hinzu, die es ermöglichten Kandidatengene in der Zygote oder zu einem beliebigen späteren Zeitpunkt der Mausentwicklung zeit- und/oder gewebespezifisch zu manipulieren (Goldstein 2001; Stanford et al. 2001; Hansen et al. 2003; Austin et al. 2004; Branda and Dymecki 2004; Kuhn et al. 2007).

Im Gegensatz zum gengesteuerten Ansatz, der der Funktionsanalyse bekannter Gene dient, ist die Fragestellung des zweiten Ansatzes der Mutagenesemethodik auf die Identifikation noch nicht bekannter Kandidatengene anhand von phänotypischen Auffälligkeiten ausgelegt und hypothesefrei. Das ENU-Projekt am Helmholtz-Zentrum München macht sich diesen Ansatz zunutze (Justice 2000; Hrabé de Angelis et al. 2000; Soewarto et al. 2000; Noveroske et al. 2000; O'Brien and Frankel 2004). An prämeiotischen spermatogenen Stammzellen männlicher Mäuse werden mittels des mutagen wirksamen

Reagenz Ethyl-Nitroso-Harnstoff (N-ethyl-N-nitroso-urea = ENU) Genmutationen verursacht (Russell 1989; Noveroske et al. 2000). Die Behandlung mit ENU bewirkt eine zufällige Alkylierung von Basen im Erbgut, so dass diese Veränderungen in Form von Punktmutationen an die Nachkommen weitervererbt werden (Noveroske et al. 2000; Balling 2001). Die Träger der Punktmutation werden einer umfassenden Phänotypisierung unterzogen. Tiere, die einen interessanten Phänotyp aufweisen, werden dann weitergezüchtet. Bleibt der Phänotyp bestehen, so wird in einem nächsten Schritt versucht das zugrunde liegende Gen mittels genetischer Marker zu identifizieren (Hrabé de Angelis 1998).

Da man bei diesem Ansatz nicht vom Gen sondern vom Phänotyp ausgeht, wird er als phänotypgesteuert (*phenotype-driven*) bezeichnet. Mittels dieses Ansatzes wurden beispielsweise die Auswirkungen einer *Missense*mutation des Wachstumshormon-Gens anhand der Mausmutantenlinie SMA1 aufgeklärt (Meyer et al. 2004).

Mutante Mauslinien werden mittlerweile nicht mehr nur innerhalb des ENU-Projekts, sondern auch innerhalb anderer Großprojekte, wie beispielsweise dem *European Conditional Mouse Mutagenesis Program* (EUCOMM, <http://www.eucomm.org>) und dem *North American Conditional Mouse Mutagenesis Project* (NorCOMM, <http://norcomm.phenogenomics.ca>), im großen Maßstab hergestellt.

1.3 Die Deutsche Mauslinik

Die Suche nach den physiologischen und pathologischen Ursachen humaner Erkrankungen beginnt mit der erfolgreichen Herstellung einer mutanten Mauslinie. Zur Erforschung des Phänotyps und der Analyse der Korrelation zwischen Phänotyp und ihm zu Grunde liegendem Genotyp muss eine umfassende Phänotypisierung durchgeführt werden (Brown und Murray 2006).

Diese Fragestellung hat sich die Deutsche Mauslinik (*German Mouseclinic*, GMC) zur Aufgabe gemacht.

Mit der GMC wurde vor einigen Jahren ein offen zugängliches Phänotypisierungszentrum etabliert, das eine umfassende und standardisierte Phänotypisierung von Mausmutantenlinien ermöglicht (<http://www.mouseclinic.de>, Gailus-Durner et al. 2005). Innerhalb der GMC arbeiten Wissenschaftler aus den unterschiedlichen Berei-

chen der Physiologie, Pathologie und Genetik Tür an Tür (Abb. 2). Diese räumliche Nähe ermöglicht einerseits standardisierte Haltungs- und Messbedingungen und bildet andererseits die Voraussetzung für die optimale Zusammenarbeit der unterschiedlichen Module.

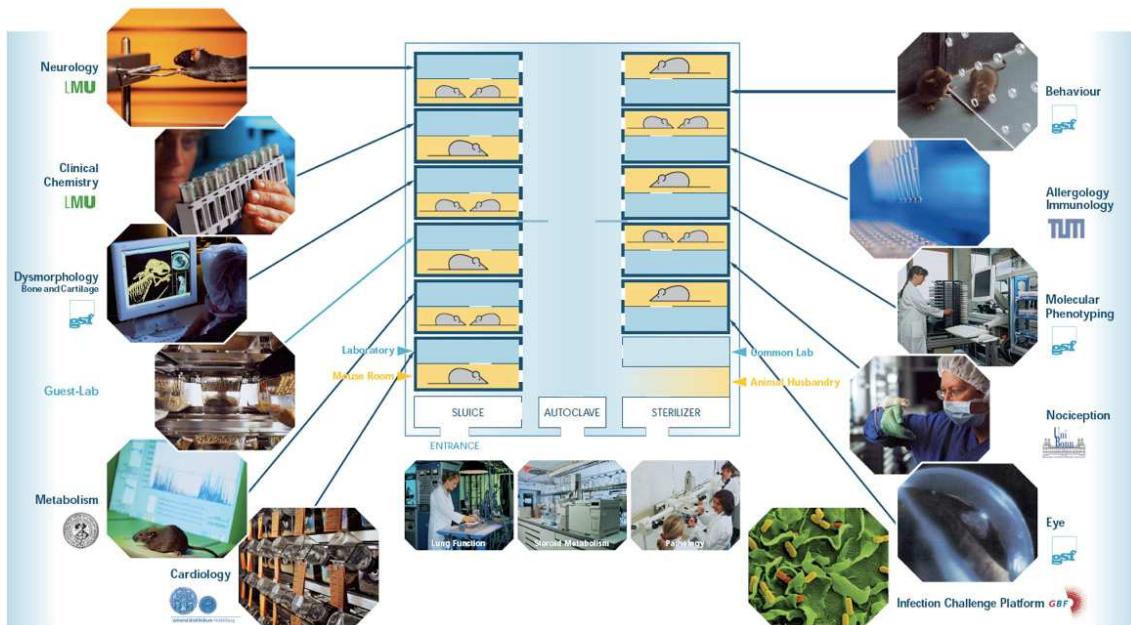


Abb. 2:
Die German Mouse Clinic

Die unterschiedlichen Labore befinden sich innerhalb eines Gebäudes, um so die Voraussetzung für eine optimale Zusammenarbeit der einzelnen Fachgebiete zu schaffen und einen problemlosen Mastransfer zwischen den einzelnen Modulen zu gewährleisten (Quelle: <http://www.mouseclinic.de>).

Im zweiwöchigen Rhythmus beginnt die Analyse einer neuen Mausmutantenlinie. Die Tiere durchlaufen im so genannten 'Primärscreen' eine umfassende und standardisierte Phänotypisierung im Laufe derer 240 Parameter pro Maus erfasst werden. Um einerseits mit der kleinstmöglichen Tierzahl ein größtmögliches Maß an Informationen zu erhalten und andererseits eine zeit- und kostenoptimierte Phänotypisierung zu ermöglichen, wurde hierfür ein innovativer Arbeitsplan (der so genannte 'Workflow', Abb. 3) entwickelt. Diese Vorgehensweise erlaubt es, an derselben Mauskoorte eine große Anzahl nichtinvasiver Tests ohne größere Störungen zwischen den einzelnen Untersuchungen durchzuführen. Der Arbeitsplan deckt die Analyse nahezu aller wichtigen physiologischen Organsysteme, der Genexpression und der Pathologie in den entsprechenden Modulen ab, so dass anhand der gesammelten Daten der Phänotyp der entsprechenden Li-

nie festgestellt werden und anschließend in detaillierteren sekundären und tertiären Folgeuntersuchungen ausführlicher untersucht werden kann.

Für alle Arbeitsabläufe innerhalb der *GMC* wurden standardisierte Protokolle, so genannte *SOPs*, entwickelt und validiert. Da bereits kleine Veränderungen in der Versuchsdurchführung oder der Tierhaltung einen Einfluss auf die Messergebnisse und somit auf die Reproduzierbarkeit der Daten haben können (Champy et al. 2004; Bailey et al. 2006; Kallnik et al. 2006), wird durch die Anwendung der *SOPs* eine weitere Grundlage für eine qualitativ hochwertige Analyse geschaffen.

Age [weeks]	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Screens																						
Dysmorphology																						
Behaviour																						
Neurology																						
Eye																						
Clinical Chemistry																						
Immunology																						
Allergy																						
Steroid Metabolism																						
Nociception																						
Cardiovascular																						
Lung Function																						
Molecular Phenotyping																						
Energy Metabolism																						
Pathology																						

Abb. 3:

Der standardisierte Arbeitsplan des Primärscreens

Im Alter von 5 Wochen erfolgt eine erste Kontrolle der Mäuse. Im Alter von 8 Wochen beginnen die Mäuse den *Primärscreen* im Verhaltensmodul. Die Analyse der Mauslinie in der Pathologie bildet im Alter von 21 Wochen den Abschluss der Untersuchungen. Schraffierte Felder beziehen sich auf blutprobenbasierte Analysen (Quelle: <http://www.mouseclinic.de>).

1.4 Der metabolische *Screen* innerhalb der *GMC*

Innerhalb der *GMC* führt der metabolische *Screen* eine umfassende metabolische Phänotypisierung von Mausmutanten durch. Er leistet damit einen Beitrag zur Aufklärung der für die Regulation des Energiehaushalts verantwortlichen physiologischen Mechanismen. Eine weitere Zielsetzung des Labors ist die Etablierung von Mausmodellen für menschliche Krankheitsbilder, die mit einer gestörten Energiehomeostase einhergehen. Eine positive bzw. negative Energiebilanz führt zu Veränderungen im Körpergewicht. Im Hinblick auf die Energiebilanz steht der Energieaufnahme der Energieverbrauch gegenüber, der sich im Wesentlichen aus Basalstoffwechsel, physischer Aktivität und adaptiver Thermogenese zusammensetzt (Spiegelmann and Flier 2001). Ein chronisches Ungleichgewicht resultiert in Über- bzw. Untergewicht eines Individuums.

Aufgabe des metabolischen *Primärscreens* ist es, im Rahmen der zeitlich engen und quantitativ hohen Durchlaufleistung des *Workflows*, effizient potentielle metabolische Phänotypen zu identifizieren, so dass die betreffenden Linien nach Abschluss des *Primärscreens* einer detaillierteren stoffwechselphysiologischen Charakterisierung innerhalb des Sekundär- und Tertiärscreens unterzogen werden können.

Im Rahmen dieser detaillierten stoffwechselphysiologischen Charakterisierung sollen die drei Hauptaspekte der Energiehomeostase: Energieaufnahme, Energieverbrauch und Energiespeicherung, genauer betrachtet werden.

Zunächst werden Energieaufnahme und –assimilation, anhand der Futteraufnahme und der Kotproduktion, sowie Körpergewicht und rektale Körpertemperatur der betreffenden Mauslinie erfasst. Zeigen Mutantenlinien Auffälligkeiten in diesen Parametern, so werden sie weiteren Tests unterzogen, im Rahmen derer sowohl Basal- und Ruhestoffwechsel, als auch der Energieverbrauch über 24 Stunden, die Körperkerntemperatur und die Spontanaktivität der Tiere ermittelt werden. Die gewonnenen Erkenntnisse über die Energieaufnahme und den Energieverbrauch werden durch die Bestimmung der Körperzusammensetzung und einer daraus resultierenden Beurteilung der Energiespeicher der Tiere vervollständigt.

1.5 Ziele

Ziel der Arbeit war es, Leitlinien zur metabolischen Phänotypisierung von Mausmutantenlinien zu entwickeln. Dies beinhaltete (1) die metabolische Charakterisierung von sechs Inzuchtlinien als Grundlage der Phänotypisierung von Mausmutantenlinien, (2) die Auswertung der Phänotypisierungsdaten von 80 Mausmutantenlinien im Gesamtüberblick, (3) die Bewertung der chronischen und akuten Futterreduktion als *Challenge-Experiment* und (4) eine detaillierte metabolische Charakterisierung der ENU-Mausmutantenlinie HWE007 anhand des Methodenspektrums des *Primär-, Sekundär- und Tertiärscreens* des metabolischen Labors.

2 Material und Methoden

2.1 Versuchstiere und Haltungsbedingungen

In der vorliegenden Arbeit wurde mit Mäusen (lat. *Mus musculus*) verschiedener Inzuchtstämme und Mutantenlinien gearbeitet. Die Tiere wurden an der Deutschen Mauseklinik (GMC) unter konstanter Umgebungstemperatur (23 ± 1 °C) gehalten. Die Luftfeuchtigkeit betrug 50 ± 10 % und die Austauschrate der Umgebungsluft lag bei 20 Litern pro Stunde. Die Tierhaltungsräume waren begehbar, fensterlos und künstlich beleuchtet. Die Licht- bzw. Dunkelphase betrug 12 Stunden, es gab keine Dämmerphase und der Licht-Dunkel-Wechsel fand um 6:30 Uhr bzw. 18:30 Uhr MEZ statt. Bei der Haltungsform handelte es sich um IVC-Racks (*I*solated *V*entilated *C*ages, Venti-RacksTM, BioZone, Margate, UK) und einen SPF-Hygienestatus (spezifisch pathogenfrei gemäß den Richtlinien der FELASA, Kraft et al. 1994; Nicklas et al. 2002). Bei den verwendeten Käfigen handelte es sich um Makrolonkäfige des Typs II (B * T * H: 17 cm * 23 cm * 13,5 cm). Sie waren mit Einstreu (Rettenmaier & Söhne GmbH, Rosenberg, Deutschland) und Futter (Mäusezuchtdiät, 1324 Altromin, Altromin Gesellschaft für Tiernahrung mbH, Lange, Deutschland; ermittelter Energiegehalt: 16.97 kJ g⁻¹) und Wasser *ad libitum* ausgestattet und wurden mit einem glatten Metalldeckel verschlossen (Abb. 4). Im Fall der Einzelhaltung wurde ein Papier (Tissuepaper, Kimwipes, Lite 200, Kimberly-Clark Professional, Koblenz, Deutschland) hinzugefügt.



Abb. 4:
Haltungskäfige (IVC)

Sowohl die sechs untersuchten Inzuchtlinien (129/SvJ, AKR/J, Balb/cJ, C57BL/6J, C3HeB/FeJ und SWR/J) als auch die Mutantenlinie HWE007 wurden in der *GMC* gezüchtet.

Die Zuchtpaare wurden in Makrolonkäfigen des Typs II zusammengesetzt, deren mit den Haltungskäfigen identische Ausstattung durch ein Mausiglu (Emsicon, Jung GmbH, Forstinning, Deutschland) ergänzt wurde. Im Alter von 21 Tagen wurden die Nachkommen abgesetzt und in Gruppen von bis zu fünf Tieren, nach Geschlechtern und Linien getrennt, in Haltungskäfigen gehalten. Um die Mäuse eines Käfigs individuell unterscheiden zu können, wurden sie mit einer Ohrlochzange mit Zahlen von 1 bis 99 markiert.

Die MML, die nicht in der *GMC* gezüchtet wurden, wurden im Alter von 4 ± 1 Wochen an die *GMC* versandt und ebenfalls in Gruppen von bis zu fünf Tieren nach Geschlechtern und Linien getrennt in Haltungskäfigen untergebracht.

Für die Dauer der jeweiligen Experimente wurden die Tiere einzeln gehalten, um so die metabolischen Parameter der Mäuse individuell bestimmen zu können.

2.1.1 Die MML HWE007

Die Mausmutantenlinie HWE007 entstammt dem ENU-Mutageneseprojekt des Helmholtz-Zentrums München. Sie wurde auf einem reinen C3HeB/FeJ-Hintergrund hergestellt und innerhalb des *Dysmorphologiescreens* anhand des Vergleichs mit einer für die Inzuchtlinie C3HeB/FeJ ermittelten Wachstumskurve (Fuchs et al. 2000) als übergewichtige Mausmutantenlinie identifiziert.

In die *GMC* kam die MML auf einem gemischten C3HeB/FeJxC57BL/6J-Hintergrund (F2 *Outcross* auf den C57BL/6J-Hintergrund).

Da eine Genotypisierung der Linie nicht möglich war, mussten die Mäuse sowohl für die Experimente als auch für die weitere Zucht anhand ihres Phänotyps den Gruppen zugeordnet werden. Das Hauptkriterium bei der Zuordnung war, neben dem Körpergewicht, die Bauchform der Mäuse (Abb. 5).

**Abb. 5:****Mäuse der MML HWE007**

Die unterschiedliche Bauchform der Kontrollen (links) und Mutanten (rechts) diente als Identifikationsmerkmal.

Im Verlauf der Zucht wurden HWE007-Mutanten mit C57BL/6J-Inzuchtmäusen gekreuzt. Die heterozygoten Nachkommen wurden wieder untereinander gekreuzt, um so wildtypische und mutante Wurfgeschwister zu erhalten.

In einem weiteren Ansatz kamen HWE007-Mäuse auf gemischtem C3HeB/FeJxBalb/c-Hintergrund in die GMC (F2 *Outcross* auf den Balb/cJ-Hintergrund). Diese Mäuse wurden für die Experimente ebenfalls aufgrund ihres Phänotyps in Gruppen aufgeteilt. Die HWE007-Mäuse dieses Hintergrunds wurden nicht weiter gezüchtet.

2.2 Der Primärscreen: Messungen zur Energieaufnahme

2.2.1 Käfigsetup

Zur Vereinfachung des Sammelns von Kotproben wurde die Einstreu aus den Käfigen entfernt und durch eine Lochplatte ersetzt (B*L*H: 17 * 22,5 * 2 cm, Lochdurchmesser 0,5 cm, hergestellt durch die Feinmechanikwerkstatt der Philipps Universität Marburg; Abb. 6). Auf diese Weise fielen sowohl der Kot, als auch das von der Maus kleingeras-

pelte, und somit nicht aufgenommene Futter, durch die Lochplatte auf den Käfigboden. Saugfähiges Papier (Tissuepaper, Kimwipes, Lite 200, Kimberly-Clark Professional, Koblenz, Deutschland) auf dem Käfigboden diente dazu, Feuchtigkeit (Urin, Trinkwasser) aufzufangen und den Kot so vor dem Aufweichen zu schützen. Manser et al. zeigten 1995, dass eine Haltung auf Gitterrosten, verglichen mit der üblichen Haltung auf Einstreu, keinen Einfluss auf die gemessenen metabolischen Parameter nahm. Die Erkenntnis, dass die untersuchten Ratten für die Wahl ihres Ruheplatzes einen glatten Käfigboden dem Gitterrost vorzogen, wurde umgesetzt, indem auf der hier verwendeten Lochplatte ein Ruheplatz ohne Lochmuster belassen wurde. Da die Möglichkeit des Nestbaus durch das Fehlen der Einstreu ebenfalls unterbunden wurde, wurde der Ruheplatz mit einem beweglichen Mausiglu ausgestattet.



Abb. 6:
Lochplatte

Lochplatte zur vereinfachten Entnahme der Kotproben aus den Käfigen.

2.2.2 Futteraufnahme, Körpergewicht und rektale Körpertemperatur unter *ad libitum* Bedingungen

Die Einzelhaltung erlaubte eine Bestimmung der individuellen Futteraufnahme. Bei allen Mäusen wurden für die Dauer einer Woche täglich zwischen 7 und 10 Uhr (MEZ) die Parameter Futterverbrauch (F_{up}), Körpergewicht (BM) und rektale Körpertemperatur ($T_{b,rec}$) bestimmt. Zur Erfassung des Futterverbrauchs wurde die Futterraufe täglich gewogen und die Differenz zum Vortag errechnet. Zusätzlich wurde die Menge des gespaltten Futters (siehe 2.2.4) vom gemessenen Futterverbrauch abgezogen. Futterverbrauch und Körpergewicht wurden mit einer Waage (Typ 440-47, Kern & Sohn

GmbH, Balingen, Deutschland) mit einer Wägegenauigkeit von ± 0.1 g bestimmt. Die rektale Körpertemperatur wurde mittels eines Handgeräts mit Rektalfühler (Fühler: Typ FNA8561; Handgerät: Typ Almemo2390-1; Ahlborn, Holzkirchen, Deutschland) gemessen, dessen Messgenauigkeit bei ± 0.1 °C lag. Zusätzlich zu den täglich bestimmten Parametern wurde am Ende der Messwoche der Kot der Mäuse gesammelt (Aufbereitung siehe 2.2.4). Die Menge des Kots wurde über 24 h komplett erfasst. Der Energiegehalt des Kotes (E_{fec}) und des Futters (E_{food}) wurde mittels eines Bombenkalorimeters (C7000, Ika, Staufen, Deutschland) bestimmt.

2.2.3 Die Futterreduktion

Zusätzlich zu den Messungen unter *ad libitum* Bedingungen wurden die Mäuse auch mit einer Energieknappheit konfrontiert, um die Reaktion auf ein reduziertes Nahrungsangebot messen und eventuelle Anpassungsvorgänge beobachten zu können. Die Futterreduktionsexperimente wurden in zwei Ausprägungen vorgenommen:

Chronische Futterreduktion

Bei der chronischen Futterreduktion wurde der zuvor gemessene *ad libitum* Futterverbrauch für jede Maus individuell um 40 % reduziert. Für die Dauer einer Woche bekamen die Tiere täglich eine Futterportion, die nur noch 60 % des Energiegehalts der unter *ad libitum* Bedingungen verbrauchten Menge betrug. Die Parameter Körpergewicht und Rektaltemperatur wurden täglich bestimmt. Nach Ablauf der Messwoche wurden Kotproben der einzelnen Tiere genommen.

Akute Futterreduktion

Im Fall der akuten Futterreduktion bekamen die Mäuse für die Dauer von 48 Stunden kein Futter. An beiden Messtagen wurden das Körpergewicht und die rektale Körpertemperatur bestimmt.

2.2.4 Sammeln und Aufbereiten der Kotproben

Durch die Einzelhaltung konnte neben der individuellen Futteraufnahme auch die individuelle Kotproduktion bestimmt werden. Während der Messungen unter *ad libitum* Bedingungen und unter 40 %iger Futterreduktion wurde der Kot jeweils für die Dauer einer Woche gesammelt. Kot und geraspелtes Futter wurden unter der Lochplatte entnommen, in Zellkulturschälchen gesammelt und für mindestens 48 Stunden in einem Trockenschrank (Memmert GmbH & CoKG, Schwabach, Deutschland) bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Anschließend wurde der Kot mit einer Pinzette vom geraspелten Futter getrennt. Sowohl das geraspелte Futter, als auch der reine Kot wurden gewogen. Die Kotprobe wurde mit einer Kaffeemühle (Severin Elektrogeräte GmbH, Sundern, Deutschland) homogenisiert. Eine Probenmenge von 1 g wurde entnommen und in einer Brikkettierpresse (C21, Ika, Staufen, Deutschland) zu einer Tablette gepresst. Der Energiegehalt des Kotes wurde anschließend mittels Bombenkalorimetrie bestimmt und auf die gesamte Probenmenge umgerechnet.

2.2.5 Bombenkalorimetrie

Das verwendete Bombenkalorimeter (C7000, Ika, Staufen, Deutschland) wies einen trockenen Geräteaufbau auf, so dass die Temperaturerhöhung nach der Verbrennung einer Probe direkt im Aufschlussgefäß (der so genannten `Bombe`) gemessen wurde. Zur Bestimmung des Energiegehaltes von Kot bzw. Futter wurde jeweils eine Proben-tablette in ein standardisiertes Aufschlussgefäß (C7010, Ika, Staufen, Deutschland) gegeben. Um eine optimale Verbrennung der Probe zu gewährleisten, wurde innerhalb des Aufschlussgefäßes mit Hilfe einer Sauerstofffüllstation (C48, Ika, Staufen, Deutschland) eine Atmosphäre mit einem Überdruck von 30 bar erzeugt. Anschließend wurde das Gefäß mit einem externen Kühlsystem (C7002, Ika, Staufen, Deutschland) auf die Temperatur der Messzelle des Bombenkalorimeters gebracht. Nachdem das Aufschlussgefäß in die Messzelle eingeführt wurde, wurde die Probe durch das Gerät gezündet. Ein im Aufschlussgefäß befindlicher Draht wurde durch Stromzufuhr zum Glühen gebracht, wodurch ein Baumwollfaden (Brennwert 50 J, Ika, Staufen, Deutschland), der sowohl zum Zünddraht als auch zur Probe Kontakt hatte, entzündet wurde. Die aus

der Probenverbrennung resultierende Temperaturerhöhung verhält sich proportional zum Energiegehalt der Probe, so dass sich der Energiegehalt der Probe aus der material-spezifischen Wärmekapazität (C) des Aufschlussgefäßes, der Temperaturerhöhung (ΔT) und dem Gewicht der Probe (G) mit folgender Formel berechnen lässt (Heldmaier und Neuweiler 2004):

$$\text{Brennwert (J/g)} = C \text{ (J K}^{-1}\text{)} * \Delta T \text{ (K)} * G^{-1} \text{ (g)} \quad [\text{Gl. 1}]$$

Der maximal mögliche Energieeintrag des verwendeten Kalorimeters betrug, bei einer Umgebungstemperatur zwischen 18 und 30 °C, 30 kJ. Die Messungen waren mit einer Genauigkeit von ± 0.1 % reproduzierbar (Herstellerangaben für den Standard NBS Benzoesäure (1 ± 0.005 g) bei einer Umgebungs- und Gefäßtemperatur von 25 ± 1 °C und einer Sauerstoffatmosphäre mit einem Druck von 30 bar).

Um einen gleich bleibenden Qualitätsstandard der Messungen zu gewährleisten, wurden in regelmäßigen Abständen Kontrollmessungen mit Benzoesäure (Brennwert 26410 J g⁻¹, Riedel de Haën AG, Seelze, Deutschland) durchgeführt und die Wärmekapazität (C-Wert) der einzelnen Aufschlussgefäße gegebenenfalls neu bestimmt.

Weiterhin wurden die Aufschlussgefäße regelmäßig auf Dichte überprüft und jährlich von der Herstellerfirma gewartet.

Zusätzlich zur Bestimmung des Energiegehaltes der Kotproben (E_{fec}) wurde mit dem Messbeginn jeder neuen Mauslinie der Energiegehalt des Futters (E_{food}) bestimmt.

2.2.6 Berechnete Werte

Die Menge der täglich aufgenommenen Energie (E_{up}) wurde aus dem Produkt von täglicher Futteraufnahme (F_{up}) und Brennwert des Futters (E_{food}) berechnet:

$$E_{\text{up}} \text{ (kJ d}^{-1}\text{)} = F_{\text{up}} \text{ (g d}^{-1}\text{)} * E_{\text{food}} \text{ (kJ g}^{-1}\text{)} \quad [\text{Gl. 2}]$$

Die metabolisierte Energie (E_{met}) wurde aus der Differenz der mit dem Futter aufgenommenen Energie (E_{up}) und der mit dem Kot (E_{Kot}) und Urin (2% von E_{up} , Drozd 1975) ausgeschiedenen Energie berechnet:

$$E_{\text{met}} \text{ (kJ d}^{-1}\text{)} = (E_{\text{up}} \text{ (kJ d}^{-1}\text{)} * 0.98) - (E_{\text{fec}} \text{ (kJ g}^{-1}\text{)} * F_{\text{ec}} \text{ (g d}^{-1}\text{)}) \quad [\text{Gl. 3}]$$

Die Assimilationseffizienz wurde aus dem prozentualen Verhältnis von E_{met} zu E_{up} berechnet.

$$F_{\text{ass}} (\%) = E_{\text{met}} (\text{kJ d}^{-1}) * 100 * E_{\text{up}}^{-1} (\text{kJ d}^{-1}) \quad [\text{Gl. 4}]$$

2.2.7 Tierzahlen und Versuchsdurchführung

2.2.7.1 Messungen unter *ad libitum* Bedingungen

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten von 86 im *Primärscreen* gemessenen Mauslinien verwendet. Diese 86 Linien setzten sich aus 6 Inzuchtlinien und 80 Mutantenlinien zusammen. Insgesamt handelte es sich hierbei um 3229 Mäuse.

Für die Experimente des *Primärscreens* wurden ausschließlich adulte Mäuse beider Geschlechter im Alter von mindestens 18 Wochen verwendet. Die durchschnittliche Gruppengröße der MML betrug $n = 7 \pm 1$ (für eine Übersicht der Gruppengrößen aller MML vergl. Anhang).

Bei den sechs Inzuchtlinien wurden folgende Stichprobengrößen im Alter von 18 ± 1 Wochen untersucht: 22 129/SvJ-Mäuse (12 Männchen und 10 Weibchen), 35 AKR/J-Mäuse (22 Männchen und 13 Weibchen), 115 C57BL/6J-Mäuse (71 Männchen und 43 Weibchen), 35 Balb/cJ-Mäuse (18 Männchen und 17 Weibchen), 99 C3HeB/FeJ-Mäuse (67 Männchen und 32 Weibchen) und 65 SWR/J-Mäuse (34 Männchen und 31 Weibchen).

Im Fall der MML HWE007 wurde der *Primärscreen* in zwei Altersstufen durchgeführt. Im Alter von 18 ± 1 Wochen wurden 24 Kontrollen (12 Männchen und 12 Weibchen) und 22 Mutanten (11 Männchen und 11 Weibchen) gemessen. Im Alter von einem Jahr wurden 12 Kontrollen (7 Männchen und 5 Weibchen) und 14 Mutanten (7 Männchen und 7 Weibchen) im *Primärscreen* analysiert. In beiden Altersstufen handelte es sich um Mäuse der 3. *Backcross*generation auf C57BL/6J.

Alle Tiere wurden zunächst für 3 Tage an das unter 2.2.1 beschriebene Käfigsetup gewöhnt, bevor mit der Messwerterfassung begonnen wurde. Im Anschluss daran wurden bei allen Mauslinien die angegebenen Parameter für die Dauer einer Woche unter *ad*

libitum Bedingungen gemessen.

2.2.7.2 Messungen unter Futterreduktion

Im Anschluss an die Messungen unter *ad libitum* Bedingungen erfolgte die Durchführung eines *Challenge*-Experiments in Form von zwei unterschiedlichen Futterreduktionsregimen. Bei 34 MML wurde eine chronische Futterreduktion durchgeführt, während 30 Linien der akuten Futterreduktion unterzogen wurden (Übersicht der MML vergl. Anhang). Bei den MML Cin85 und FIN13 wurden an unterschiedlichen Gruppen beide Futterreduktionsexperimente durchgeführt.

Bei den Inzuchtlinien wurden folgende Stichprobengrößen chronisch futterreduziert: 22 129/SvJ-Mäuse (12 Männchen und 10 Weibchen), 11 AKR/J-Mäuse (15 Männchen und 6 Weibchen), 114 C57BL/6J-Mäuse (71 Männchen und 43 Weibchen), 24 Balb/cJ-Mäuse (13 Männchen und 11 Weibchen), 99 C3HeB/FeJ-Mäuse (67 Männchen und 32 Weibchen) und 40 SWR/J-Mäuse (21 Männchen und 19 Weibchen).

Im Fall der MML HWE007 wurden alle unter *ad libitum* Bedingungen gemessenen Mäuse auch einer chronischen Futterreduktion unterzogen.

Eine chronische bzw. akute Futterreduktion stellt für die Maus eine je nach Stoffwechsellaage erhebliche Herausforderung dar. Die Körpergewichtsreduktion und das Absinken der Körpertemperatur wurden genau erfasst. Als Abbruchkriterium wurde eine Körpertemperatur von $< 30\text{ °C}$ gewählt.

2.3 Der Sekundärscreen: Messungen zum Energieverbrauch

2.3.1 Indirekte Kalorimetrie

2.3.1.1 Aufbau der indirekten Kalorimetrie

Zur Erfassung des Energieumsatzes wurde ein offenes respirometrisches System gemäß des 1981 von Heldmaier und Steinlechner beschriebenen Versuchsaufbaus verwendet. Als Messküvetten dienten Typ II Markrolonkäfige, die den Haltungskäfigen in Größe und Form identisch waren. An der Frontseite der Küvetten wurde ein Stutzen angebracht, durch den die Küvettenluft abgesaugt wurde. Die Küvetten wurden mit einem Kunststoffschiebedeckel so verschlossen, dass zwischen Deckel und der dem Stutzen gegenüberliegenden Küvettenrückseite ein schmaler Schlitz entstand, der das Nachströmen von Umgebungsluft ermöglichte. Durch ein Loch in der Küvettenrückseite wurde eine Wasserflasche von außen angebracht, um diese vor dem Anknabbern durch die Maus zu schützen. Das Loch wurde mit Heißkleber um den Trinkstutzen herum luftdicht versiegelt. Durch ein weiteres kleines Loch in der Küvettenvorderseite wurde ein Thermoelement zur Bestimmung der Küvetteninnentemperatur eingeführt. Das Loch wurde ebenfalls mit Heißkleber luftdicht versiegelt. Weiterhin wurden die Küvetten mit einer Lochplatte und einem Blatt saugfähigen Papiers auf dem Küvettenboden sowie einem Mausiglu versehen (Abb. 7).



Abb. 7:
Messküvetten

Die Messküvetten wurden mit einer Wasser- und Futtermenge *ad libitum* ausgestattet und mit einem Mausiglu versehen.

Zum Zeitpunkt der Messung befanden sich vier mit jeweils einer Maus bestückte Messküvetten in einem Klimaprüfschrank (WK 111¹⁸⁰, Weiss Umwelttechnik GmbH, Reiskirchen, Deutschland). Dieser wurde mit Pressluft gespült und ein rückseitig angebrachter Ventilator sorgte für eine gleichmäßige Durchmischung der Schrankinnenluft. Mittels druckfrei arbeitender Membranpumpen (Schego, Schemel & Götz GmbH & CoKG, Offenbach am Main, Deutschland) wurden die Messküvetten mit Schrankluft (50 l h^{-1}) durchströmt. Die Zuleitung der Luft erfolgte über gasdichte Silikonschläuche (Tygon, Saint-Gobain Performance Plastics, Akrum, USA) und Kupferrohre. Die abgesaugte Luft wurde mit Hilfe einer elektrischen Kühlfalle (ECP-1000, M&C Products Analystechnik GmbH, Ratingen, Deutschland) getrocknet und der Luftfluss mittels eines thermoelektrischen Massenflussmessers (Millipore Typ FM 360 V, Millipore-Tylan Corporation, Torrance, USA) bestimmt, der eine volumenkorrekturfreie Berechnung der Gaskonzentration ermöglichte. Der Sauerstoff- bzw. Kohlendioxidgehalt der Messluft wurde mit Hilfe eines O_2 -Analysators (Magnos106, Advance Optima, ABB, München, Deutschland) und eines vorgeschalteten CO_2 -Analysators (Uras14, Advance Optima, ABB, München, Deutschland) bestimmt. Zeitgleich zum Messgas aus den Tierküvetten wurde ein Vergleichsgas aus dem Innenraum des Klimaschranks abgesaugt, so dass sich nach der Passage der Messküvette eine Differenz der Gaskonzentration ergab, die mit einer Genauigkeit von $0,001 \Delta\text{Vol}\%$ ausgegeben wurde. (Schematischer Aufbau siehe Abb. 8)

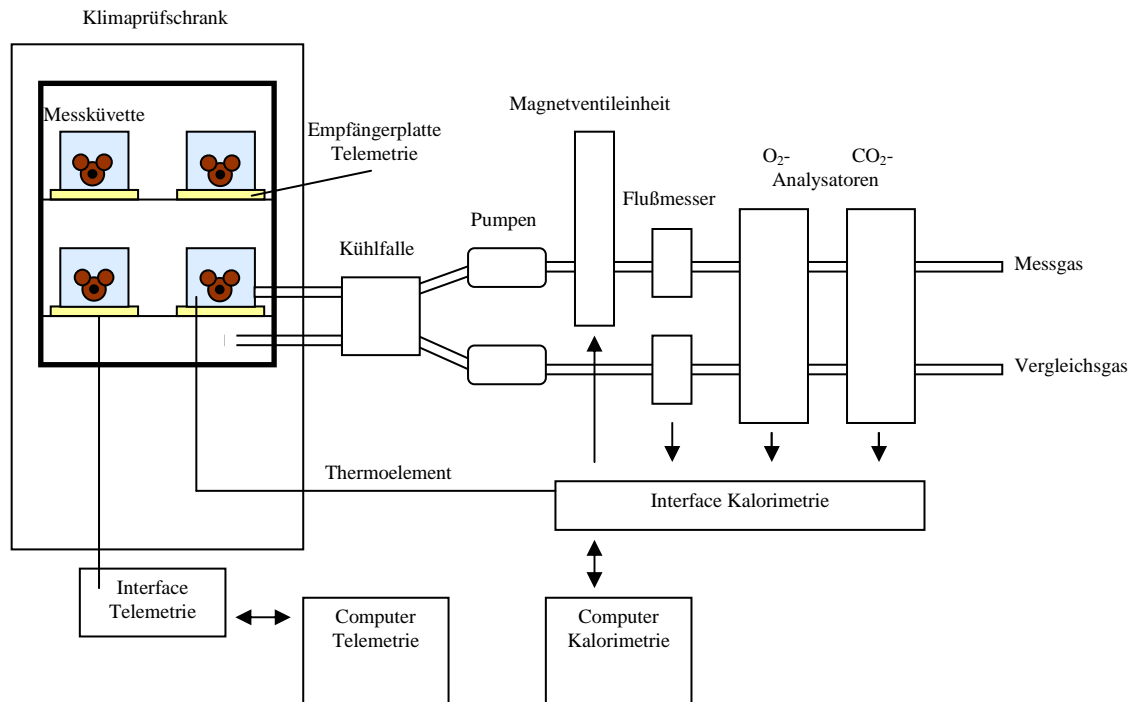


Abb. 8:
Schematischer Aufbau der indirekten Kalorimetrie- und Telemetrieinheit

2.3.1.2 Kalibrierung der Gasanalysatoren

Vor jeder Messung wurden die Analysatoren kalibriert. Hierzu wurden Gasgemische verwendet, die mit Hilfe einer Gasmischpumpe (Typ 5KA27/7, Wösthoff Messtechnik GmbH, Bochum, Deutschland) hergestellt wurden. Der O₂-Analysator wurde mittels einer Zweipunktmessung kalibriert wobei dem Gerät Luft aus dem Klimaschrank (entspricht einer Sauerstoffkonzentration von 20.95 Vol%) sowie ein Gemisch aus Pressluft und 4 Vol% Stickstoff (entspricht 20.11 Vol% Sauerstoff) zugeführt wurden. Der CO₂-Analysator wurde ebenfalls mittels einer Zweipunktmessung kalibriert, allerdings wurden hier die Kalibrierküvette des Analysators und 100 Vol% Stickstoff (entspricht 0 % CO₂) als Kalibrationspunkte verwendet.

2.3.1.3 Messwerterfassung

Dieser Versuchsaufbau ermöglichte das parallele Messen von bis zu fünf Kanälen. Mittels eines Interfaces (Typ Almemo 5590, Ahlborn, Holzkirchen, Deutschland) wurde in Intervallen von einer Minute die Differenz von Vergleichsgas und dem Messgas aus der Tierküvette berechnet ($\Delta\text{Vol\% O}_2$ bzw. $\Delta\text{Vol\% CO}_2$). Zusätzlich wurden Flussrate und Umgebungstemperatur registriert.

Die 3-Wege-Magnetventile gewährleisteten einen konstanten Luftfluss durch die Messküvette und leiteten die Messluft der jeweils angesteuerten Küvette den Analysatoren zu.

Das Ansteuern der Magnetventile und die Registrierung der Daten erfolgte mit Hilfe einer Software (AMR Wincontrol Messwerterfassung (Sonderversion), Akrobit Software GmbH, Gera, Deutschland), die auch die erfassten Messwerte abspeicherte.

Eine Steigerung der Messgenauigkeit wurde erreicht, indem neben den vier mit Mäusen bestückten Messkanälen eine leere Küvette als so genannte Nullküvette zusätzlich gemessen wurde. Auf diese Weise bestand die Möglichkeit das Nullgas mit dem Vergleichsgas zu verrechnen und so eventuelle Schwankungen der Analysatoren zu erkennen und zu korrigieren.

Das Messintervall betrug eine Minute pro Küvette. Auf diese Weise wurde bei der Messung von fünf Küvetten in Intervallen von 6 Minuten je ein Wert pro Küvette erfasst ($240 \text{ Werte} \cdot \text{d}^{-1} \cdot \text{Tier}^{-1}$).

2.3.1.4 Berechnete Parameter

Mit Hilfe der gemessenen Parameter $\Delta\text{Vol\%O}_2$, $\Delta\text{Vol\%CO}_2$ und Flussrate (Fluss) konnten weitere Parameter berechnet werden.

Die Stoffwechselrate (MR, engl. *metabolic rate*) berechnet sich nach Heldmaier (1975):

$$\text{MR (mlO}_2 \text{ h}^{-1}) = \Delta\text{Vol\%O}_2 \cdot \text{Fluß (l h}^{-1}) \cdot 10 \quad [\text{Gl. 5}]$$

Der Energieverbrauch in kJ berechnet sich ebenfalls nach Heldmaier (1975):

$$HP \text{ (kJ} \cdot 24\text{h}^{-1}) = (4.44 + 1.43 \cdot RQ) \cdot VO_2 \cdot 0.0864 \quad [\text{Gl. 6}]$$

bzw.

$$HP \text{ (kJ} \cdot \text{h}^{-1}) = ((4.44 + 1.43 \cdot RQ) \cdot VO_2 \cdot 0.0864) \cdot 24^{-1} \quad [\text{Gl. 7}]$$

Der Respiratorische Quotient (RQ) wurde aus dem Quotienten von VCO_2 und VO_2 berechnet.

$$RQ = (VCO_2) \cdot (VO_2)^{-1} \quad [\text{Gl. 8}]$$

2.3.2 Telemetrie

Zur Messung der Körperkerntemperatur und der Spontanaktivität wurde das System 'VitalView Series 3000' verwendet und in den Aufbau der indirekten Kalorimetrie integriert (Abb. 8). Das Telemetriesystem bestand aus der VitalView Software (Version 4.1) und je Maus einer Empfängerplatte ($B \cdot T \cdot H = 23.0 \text{ cm} \cdot 33.3 \text{ cm} \cdot 3.5 \text{ cm}$) sowie einem kombinierten Temperatur- und Aktivitätssender (alle Komponenten Firma Mini-Mitter, Sunriver, Oregon, USA; deutscher Vertrieb: med-NATIC GmbH, München, Deutschland).

2.3.2.1 Vorbereitung der Sender

Die Temperatursender wurden mit einer Batterie (Typ 319, 1.5 V, Rayovac Quarz, Birkenstock & Co GmbH, Geesthacht, Hamburg) ausgestattet und in Plastikkapseln (Mini-Mitter) verschlossen, die abschließend mit einer Wachsmischung (Elvax®, Mini-Mitter) umhüllt wurden. Das Gesamtgewicht eines Senders betrug $1.5 \pm 0.3 \text{ g}$ und die Funktionsdauer lag bei ca. 4 Monaten.

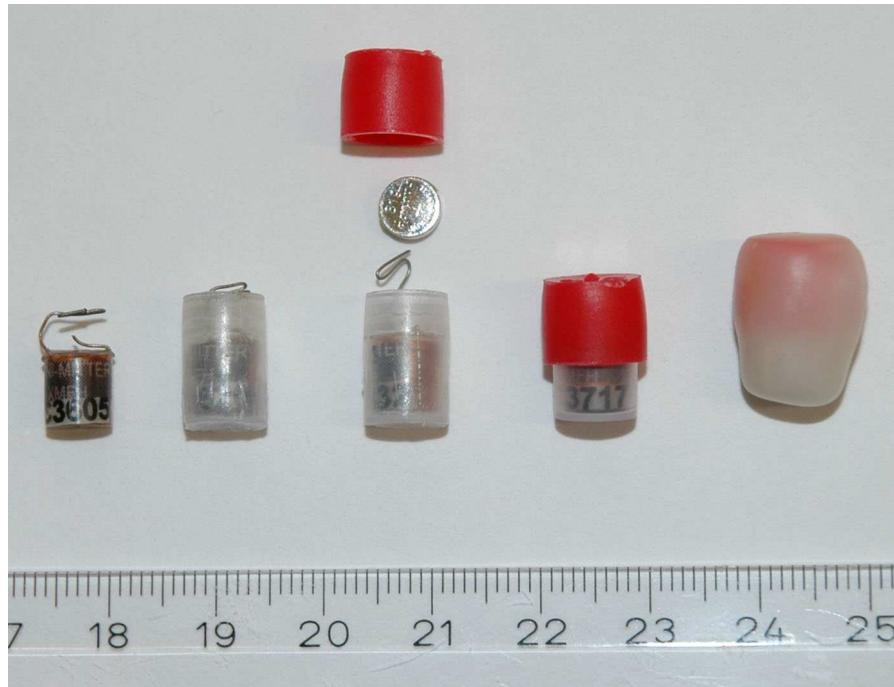


Abb. 9:
Stufenweiser Zusammenbau der Temperatursender

2.3.2.2 Kalibrierung

Die Kalibrierung der Sender erfolgte anhand zweier Temperaturpunkte (32 und 39 °C). Die Sender wurden mit Hilfe eines Wasserbades (ThermoHaake GmbH, Karlsruhe, Deutschland) auf die entsprechende Temperatur gebracht. Die Temperatur des Bades wurde anhand eines Eichthermometers mit einer Genauigkeit von 0.1 °C kontrolliert. Die Signale der Sender wurden mit Hilfe einer der Empfängerplatten erfasst und die Frequenz des Signals bei den Eichtemperaturen in Hz durch die VitalView-Software ermittelt und zur Kalibrierung verwendet.

2.3.2.3 Implantation

Zur intraperitonealen Implantation der Sender wurden die Tiere narkotisiert. Hierzu wurden 75 mg kg⁻¹ Ketaminhydrochlorid (Ketavet, Pharmacia GmbH, Erlangen, Deutschland) und 2 mg kg⁻¹ Xylazinhydrochlorid (Rompun 2%, Bayer, Leverkusen, Deutschland) intraperitoneal injiziert. Die Narkose wurde während der Operation durch Beatmung mit 2-4 % Isofluran (Abbott Laboratories, Heiland Vet Vertriebsgesellschaft,

Hamburg, Deutschland) unterstützt. Diese Inhalationsnarkose erfolgte über einen Vaporisierer mit Flussmesser (UNO, Zevenaar, Niederlande), mit dem ein Isoflouran-Aerosol hergestellt und über eine spezielle Inhalationsmaske appliziert wurde. Der Operationstisch (UNO, Zevenaar, Niederlande) wurde über eine eingelassene Wasserspirale auf 37 °C erwärmt, um die Mäuse so vor dem Auskühlen während der Operation zu schützen. Die Temperatur des Wasserbades wurde in regelmäßigen Abständen kontrolliert.

Zu Beginn der Operation wurde die Bauchdecke der narkotisierten Maus mit einer Skalpellklinge rasiert und mit einer 70 %igen Ethanollösung desinfiziert. Die Bauchdecke wurde anschließend entlang der *Linea alba* mit einem kleinen Schnitt von ca. 1.5 cm Länge geöffnet. Durch diese Öffnung wurde der ebenfalls mit 70 %iger Ethanollösung desinfizierte und anschließend mit destilliertem Wasser abgespülte Sender eingeführt. Bauchdecke und Haut wurden einzeln mit resorbierbarem Nahtmaterial (Marlin violett resorbierbar, Catgut GmbH, Markneukirchen, Deutschland) verschlossen. Zur Rekonvaleszenz wurden die Tiere 10-14 Tage einzeln gehalten. Die Wundheilung wurde täglich kontrolliert.

2.3.2.4 Messwerterfassung

Die Signalerfassung der Sender erfolgte durch die Empfängerplatten des VitalView-Systems, auf denen die Messküvetten standen (Abb. 8).

Die implantierten Sender wurden von Radiowellen angesprochen, die von den Spulen der Empfängerplatten generiert wurden. Die Sender erzeugten als Antwort ein amplituden-moduliertes Signal im Mittelwellenbereich, das seinerseits über die Empfängerplatte empfangen und an die VitalView Software weitergeleitet wurde. Dieses Signal war temperaturabhängig. Über einen vorgegebenen Zeitraum von einer Minute wurde ein Mittelwert der empfangenen Werte berechnet und abgespeichert. Die Genauigkeit der Temperaturbestimmung liegt laut Hersteller bei ± 0.1 °C. Die Spontanaktivität wurde über eine, durch Lageveränderung des Senders bedingte, Veränderung der Signalstärke am Empfänger bestimmt. Die empfangenen Aktivitätssignale wurden innerhalb einer Minute aufsummiert und von der Software abgespeichert. Die gemessene Spontanaktivität der Tiere war rein qualitativ und ist nicht geeignet, über zurückgelegte Strecken bzw. dafür aufgewandte Energie eine quantitative Aussage zu treffen. Mit Hilfe der VitalView Software wurde sowohl die Körperkerntemperatur als auch die Aktivität in

Intervallen von einer Minute registriert, so dass pro Tag und Tier für beide Parameter jeweils 1440 Messpunkte erfasst wurden.

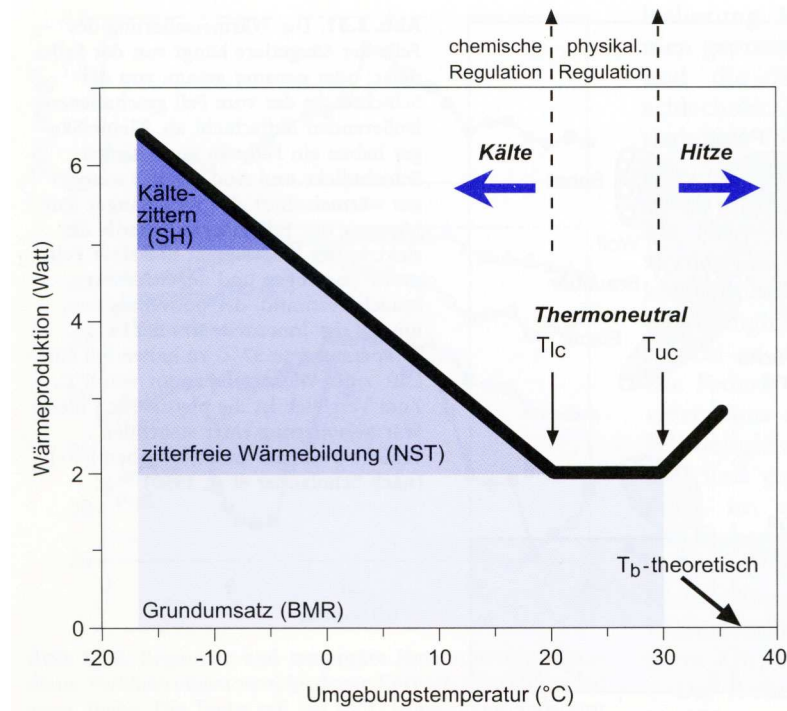
2.3.3 Tierzahlen und Versuchsdurchführung

2.3.3.1 Bestimmung des Basalstoffwechsels

Der Basalstoffwechsel (BMR, *basal metabolic rate*) wird als stabile Stoffwechselrate eines postabsorptiven, normothermen, in Ruhe befindlichen (aber nicht schlafenden) Tieres in Thermoneutralität definiert. Als Thermoneutralzone (TNZ) wird der Umgebungstemperaturbereich bezeichnet, an dem keine über den Basalstoffwechsel hinausgehende Energie, beispielsweise zittern oder schwitzen, zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur aufgebracht werden muss (Abb. 10).

Wie bereits unter Punkt 2.3.1.1 beschrieben wurden die Tiere einzeln in Messküvetten in einem Klimaschrank untergebracht. Zur Bestimmung der Thermoneutralzone wurden die Tiere zunächst für 90 Minuten bei Haltungstemperatur (24°C) gemessen, um ihnen so eine Gewöhnung an das neue Umfeld zu ermöglichen. Nach Ablauf der Gewöhnungsphase wurde die Umgebungstemperatur schrittweise verändert und, sobald die Temperatur für den jeweiligen Temperaturschritt konstante war, für mindestens 20 Minuten beibehalten. Folgende Umgebungstemperaturen wurden durchlaufen: 22°C, 20°C, 18°C, 16°C, 24°C, 26°C, 28°C, 30°C, 32°C, 34°C, 36°C. Der nächste Temperaturschritt wurde erst dann eingeleitet wenn die Maus bei der jeweiligen Umgebungstemperatur für drei aufeinander folgende Messwerte ruhig gelegen hatte. Anhand der Stoffwechselraten unter verschiedenen Umgebungstemperaturen konnte die Thermoneutralzone der Mäuse bestimmt werden. Die Stoffwechselrate innerhalb der Thermoneutralzone entspricht dem Basalstoffwechsel, wohingegen die Stoffwechselrate außerhalb der Thermoneutralzone dem Ruhestoffwechsel bei den entsprechenden Umgebungstemperaturen entspricht (Abb. 10). Während der gesamten Messdauer von ca. 8 Stunden stand den Tieren weder Futter noch Wasser zur Verfügung, da der Basalstoffwechsels als Energieverbrauch eines ruhenden Individuums in der Thermoneutralzone 8-12 Stunden nach der letzten Futteraufnahme klassifiziert wird (Spiegelmann and Flier 2001).

Der Basalstoffwechsel wurde bei 16 Kontrollen (8 Männchen, 8 Weibchen) und 15 Mutanten (8 Männchen, 7 Weibchen) im Alter von einem Jahr bestimmt.

**Abb. 10:****Modell der Thermoregulation**

Der BMR entspricht dem RMR in Thermoneutralität. T_{lc} : untere kritische Temperatur, T_{uc} : obere kritische Temperatur der Thermoneutralzone (TNZ), T_b -theoretisch: theoretische Körpertemperatur. (Heldmaier und Neuweiler 2004).

2.3.3.2 Bestimmung des täglichen Energieverbrauchs

Während der Bestimmung des täglichen Energieverbrauchs (DEE, engl. *daily energy expenditure*) wurde der Klimaprüfschrank auf eine Temperatur von $24 \pm 1^\circ\text{C}$ (nahe Haltungstemperatur) eingestellt. Der Licht-Dunkel-Wechsel erfolgte, wie auch im Halterraum, ohne Dämmerungsphase um 6:30 Uhr bzw. 18:30 Uhr MEZ.

Zu Beginn der Messung wurden die Tiere vor Beginn der Dunkelphase, wie unter 2.3.1.1 beschrieben, in den Klimaschrank eingesetzt. Die Messküvetten waren mit Futter und Wasser *ad libitum* sowie einem Mausiglu versehen.

Die erste Dunkelphase wurde als Adaptionszeit gewertet und die Messwerte wurden daher nicht in die Messung einbezogen. Mit Beginn der Lichtphase wurden die Mäuse für weitere 24 Stunden gemessen. Auf diese Weise konnten sowohl der tägliche Energieverbrauch, als auch die zirkadiane Rhythmik des Energieverbrauchs, der Körpertemperatur und der Aktivität bestimmt werden.

Die Mausmutantenlinie HWE007 wurde im Versuchsaufbau der indirekten Kalorimetrie in drei Altersstufen gemessen. Im Alter von 21 ± 1 Wochen wurden indirekte Kalorimetrie und Telemetrie kombiniert bei 20 Kontrollen (10 Männchen und 10 Weibchen) und 20 Mutanten (10 Männchen und 10 Weibchen) untersucht.

Im Alter von 35 ± 2 Wochen wurde bei 20 Kontrollen (10 Männchen und 10 Weibchen) und 19 Mutanten (9 Männchen und 10 Weibchen) allein die indirekte Kalorimetrie durchgeführt. Bei den einjährigen Mäusen betrug die Stichprobengröße bei den Kontrollen 18 (10 Männchen und 8 Weibchen) und bei den Mutanten 18 (10 Männchen und 8 Weibchen). Bei diesen 36 Mäusen wurden die Methoden der indirekten Kalorimetrie und der Telemetrie kombiniert. In allen Altersstufen handelte es sich um Mäuse der 3. Backcrossgeneration auf C57BL/6J.

2.4 Der Tertiärscreen: Bestimmung der Körperzusammensetzung

2.4.1 Soxhlet Methode

Zur Bestimmung der Körperzusammensetzung wurde eine Fettextraktion nach der Soxhletmethode durchgeführt.

Für die Fettextraktion wurden die Mäuse getötet. Nach der Gewichtsbestimmung wurde der Bauchraum geöffnet, der Gastrointestinaltrakt entfernt und ausgewogen, um eine Ungenauigkeit der Ergebnisse durch im Darminhalt enthaltene Nahrung zu verhindern. Abschließend wurde das Gewicht der Karkasse (BM_C) bestimmt, bevor die Tiere in Filterpapier eingewickelt wurden. Das Filterpapier wurde durch Heftklammern verschlossen und auch das Gewicht der Karkasse im verschlossenen Filterpapier (BM_{Filter}) wurde erfasst. Anschließend wurden die Tiere für mindestens 10 Tage bei einer Temperatur von $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ in einem Trockenschrank (Memmert GmbH & CoKG, Schwabach, Deutschland) bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Gewicht der trockenen Filterpäckchen ($BM_{\text{Filter,dry}}$) wurde bestimmt, bevor sie in den Soxhlet-Extraktionsapparat (Abb. 11) gesteckt wurden.

Im unteren Teil des Soxhlet-Apparats befand sich ein mit Petrolether gefüllter und mit Siedesteinchen versehener Rundkolben, der durch einen Heizpilz erhitzt wurde. Der

verdunstende und am Rückflusskühler rekondensierende Petrolether tropfte in den Extraktionsraum und durchtränkte das Extraktionsgut.

Bei Erreichen der Steighöhe des Heberohrs floss der Petrolether aus dem Innenraum zurück in den Rundkolben wo er erneut erhitzt wurde, verdampfte und wiederum in den Extraktionsraum tropfte. Der Petrolether löste das Körperfett aus der Maus, wodurch er sich dunkel verfärbte. Das Fortschreiten der Extraktion war an einer immer schwächer werdenden Anfärbung des Petrolethers im Extraktionsraum zu erkennen. Die Extraktion war abgeschlossen, wenn der Petrolether im Extraktionsraum durchsichtig blieb. Dies geschah in der Regel nach zwei Tagen (ca. 16 Stunden). Nach Abschluss der Extraktion wurde das Filterpäckchen erneut für 48 Stunden im Trockenschrank getrocknet und das Endgewicht ($BM_{\text{Filter, fatfree}}$) bestimmt.

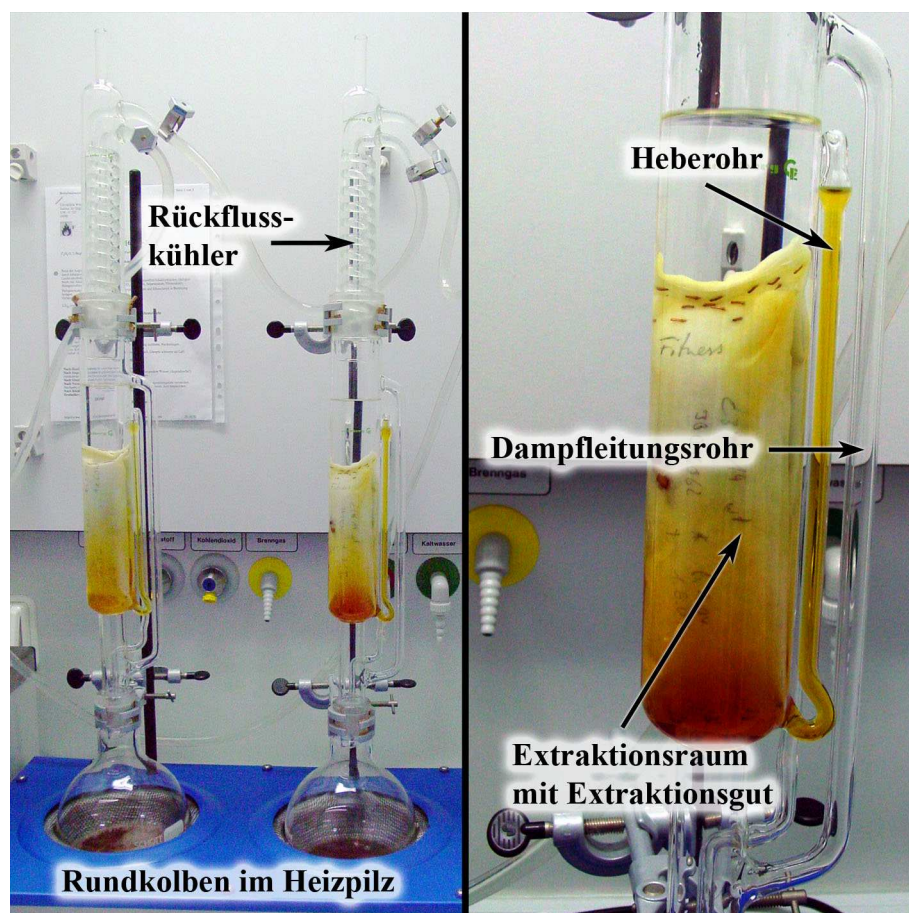


Abb. 11:
Soxhlet-Apparat

Aufbau der im Text beschriebenen Soxhletmethode.

2.4.2 Berechnete Parameter

Der Wassergehalt (WC, engl.: *water content*) berechnet sich aus der Differenz des Karkassengewichts im Filter vor und nach der Trocknung.

$$WC (g) = BM_{\text{Filter}} (g) - BM_{\text{Filter,dry}} \quad [\text{Gl. 9}]$$

Der Fettgehalt (FM, engl.: *fat mass*) berechnet sich aus der Differenz der jeweils getrockneten Karkassen im Filterpapier vor und nach der Extraktion.

$$FM (g) = BM_{\text{Filter,dry}} (g) - BM_{\text{Filter,fatfree}} (g) \quad [\text{Gl. 10}]$$

Die fettfreie Masse (FFM, engl.: *fat free mass*) berechnet sich aus dem Gewicht der Karkasse abzüglich des Fettgehalts.

$$FFM (g) = BM_C (g) - FM (g) \quad [\text{Gl. 11}]$$

Die fettfreie Trockenmasse (FFDM, engl.: *fat free dry mass*) berechnet sich aus dem Gewicht der Karkasse abzüglich des Wasser- und Fettgehalts.

$$FFDM (g) = BM_C (g) - WC (g) - FM (g) \quad [\text{Gl. 12}]$$

2.4.3 Tierzahlen

Im Alter von 35 ± 2 Wochen wurde die Körperzusammensetzung von 28 Kontrollen (20 Männchen und 8 Weibchen) und 31 Mutanten (18 Kontrollen und 13 Mutanten) der MML HWE007 bestimmt. Alle Mäuse entstammten der 3. *Backcross*generation auf C57BL/6J.

2.5 Der intraperitoneale Glukose-Toleranz-Test

Der Glukose-Toleranz-Test dient der Bestimmung der Glukose*clearance* im zeitlichen Verlauf nach einer Glukoseinjektion, um so auf eine mögliche Insulinresistenz und einen damit zusammenhängenden Diabetes der übergewichtigen MML HWE007 schließen zu können.

2.5.1 Tierzahlen und Versuchsdurchführung

Zur Vorbereitung des Glukose-Toleranz-Tests wurden die Mäuse über Nacht gefastet (Futterentzug um 17 Uhr des Vortages, Fastenzeit 15 Stunden). Zur Bestimmung der Blutglukosekonzentration wurde die Schwanzspitze der Mäuse mit einer Schere abgetrennt (ca. 1 mm) und der Blutropfen mit dem Teststreifen des Handmessgeräts (Accu-Check Aviva, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) aufgenommen. Die Glukosekonzentration wurde in mg dl^{-1} angegeben.

Zu Versuchsbeginn wurde die Blutglukosekonzentration der nüchternen Tiere bestimmt. Anschließend wurde jeder Maus Glukose in einer Konzentration von 2 g kg^{-1} intraperitoneal injiziert (G-20, Glukose zur intravenösen Anwendung, B. Braun, Melsungen, Deutschland). Die Blutglukosekonzentration wurde 15, 30, 60, 90 und 120 Minuten nach der Injektion erneut gemessen.

Der Glukose-Toleranz-Test wurde bei 17 Kontrollen (10 Männchen und 7 Weibchen) und 9 Mutanten (5 Männchen und 4 Weibchen) der MML HWE007 im Alter von 22 ± 1 Wochen durchgeführt. Hierbei handelte es sich um Mäuse des gemischten C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrunds.

2.6. Klinische Chemie und Hämatologie

In Zusammenarbeit mit dem klinisch-chemischen *Screen* der GMC wurde die Blutparameter der MML HWE007 bestimmt.

2.6.1 Versuchsdurchführung

Vor der Blutentnahme wurden die Mäuse mit Ether anästhesiert. Anschließend wurde mit einer Glaskapillare (Durchmesser 1.0 mm, Laborteam K&K; München, Deutschland) der retro-orbitale Sinus punktiert. Insgesamt wurden ca. 300 µl Blut entnommen und in einem mit Heparin versehenen Gefäß (Li-heparin, KABE, Nümbrecht, Deutschland) gesammelt. Weitere 50 µl Blut wurden in einem mit EDTA versehenen Gefäß gesammelt (KABE, Nümbrecht, Deutschland). Direkt nach der Blutentnahme wurde das Gefäß sanft geschüttelt, um eine gleichmäßige Verteilung des Antikoagulants zu garantieren.

Die mit Heparin versehenen Gefäße wurden bei Raumtemperatur für 2 Stunden inkubiert. Nach Ablauf der Zeit wurden Serum und Plasma durch Zentrifugieren getrennt (10 Minuten, 4656 x g; Biofuge, Heraeus, Hanau, Deutschland). 130 µl des Plasmas wurden in ein Eppendorfgefäß verbracht und mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:2 verdünnt. Mittels Vortexer wurde die Lösung gemischt (Vortexgenie, Scientific Industries, New York, USA), um eine eventuelle Verklumpung zu verhindern. Abschließend wurde das Gemisch noch einmal für 10 Minuten bei 4656 x g zentrifugiert.

2.6.1.1 Bestimmung der klinisch-chemischen Parameter

Das verdünnte Plasma (260 µl) in den Eppendorfgefäßen wurde direkt in den Analysator gegeben (Olympus AU400 Autoanalysator, Olympus, Hamburg, Deutschland). Die Messdaten (siehe unten) wurden automatisch an einen Computer weitergeleitet und abgespeichert.

Ein qualitativ gleich bleibender Standard wurde durch eine regelmäßig durchgeführte Qualitätskontrolle gewährleistet. Das System wurde in vom Hersteller vorgegebenen Intervallen kalibriert. Weiterhin wurden tägliche Qualitätskontrollen mit einer Standardprobe im normalen Messbereich sowie einer zweiten Probe oberhalb des normalen

Messbereichs (mit Ausnahme von Transferrin und Ferritin, die ausschließlich im normalen Messbereich bestimmt wurden) durchgeführt. Die Ergebnisse der Qualitätskontrollen wurden vom System archiviert. Der Analysator wurde von der Firma Olympus in einem halbjährlichen Rhythmus gewartet.

Folgend sind die bestimmten Parameter mit dem jeweils verwendeten Kit (Olympus, Hamburg, Deutschland) aufgelistet:

Parameter	Verwendetes Analysekit
<u>Plasmaenzymaktivität:</u>	
Alkalische Phosphatase	OSR 6104
α -Amylase	OSR6182 bzw. OSR6106
Kreatinkinase	OSR6179
Aspartat-Aminotransferase (AST/GOT)	OSR6009
Alanin-Aminotransferase (ALT/GPT)	OSR6007
Ferritin	OSR6150
Transferrin	OSR 6152
<u>Plasmakonzentration spezifischer Substrate:</u>	
Glukose	OSR6121
Cholesterin	OSR6116
HDL (<i>high density lipoprotein</i>)	OSR6187
LDL (<i>low density lipoprotein</i>)	OSR6183
Triglyzeride	OSR6133
Gesamtprotein	OSR6132
Harnsäure	OSR6198
Harnstoff	OSR6134
Kreatinin	OSR6178
Freie Fettsäuren	Nefa C (WaKo Chemicals GmbH, Neuss, Deutschland)
<u>Plasmakonzentration der Elektrolyte:</u>	
Kalium	Ionensensitive Einheit des Analysators
Natrium	Ionensensitive Einheit des Analysators
Chlor	Ionensensitive Einheit des Analysators
Kalzium	OSR6176
anorganisches Phosphat	OSR6122

2.6.1.2 Bestimmung der hämatologischen Parameter

50 µl Blut wurden direkt nach der Entnahme per Hand durch mehrmaliges invertieren gründlich mit EDTA durchmischt, kurz mittels eines Vortexers aufgemischt und zur Analyse des kleinen Blutbilds mit Hilfe eines ABC-Blutzellenzählgerätes (ABC-Blutbild-Analyser, Scil Animal Care Company GmbH, Viernheim, Deutschland) verwendet. Die gemessenen Werte wurden an einen Computer weitergeleitet und dort gespeichert.

Um einen qualitativ gleich bleibenden Standard zu gewährleisten, wurde das System im halbjährlichen Rhythmus von der Herstellerfirma gewartet und kalibriert. Zusätzlich wurde vor jeder Messung eine Qualitätskontrolle (Minotrol16, Humanblut) durchgeführt.

Folgende Parameter wurden bestimmt:

Anzahl der weißen Blutzellen (WBC, engl.: *white blood cell count*), Anzahl der roten Blutzellen (RBC, engl.: *red blood cell count*), Hämatokrit (HCT), Hämoglobin (HGB), mittleres Erythrozyteneinzelvolumen (MCV, engl.: *mean corpuscular volume*), mittlere Hämoglobinkonzentration in den Erythrozyten (MCH, engl.: *mean corpuscular hemoglobin*), Anteil des Hämoglobins am Gesamtvolumen der roten Blutkörperchen (MCHC, engl.: *mean corpuscular hemoglobin concentration*), Anzahl der Thrombozyten (PLT, engl.: *platelet count*).

2.6.2 Tierzahlen

Für die Bestimmung der klinisch-chemischen und hämatologischen Parameter wurde eine Gruppe der MML HWE007 auf C57BL/6J-Hintergrund (3. Backcrossgeneration auf C57BL/6J) und eine Gruppe auf gemischtem C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrund gemessen. Beide Gruppen waren 30 ± 1 Woche alt.

Die Gruppe auf C57BL/6J-Hintergrund setzte sich aus 16 Kontrollen (8 Männchen und 8 Weibchen) und 12 Mutanten (5 Männchen und 7 Weibchen) zusammen, während die Gruppe auf gemischtem C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrund aus 15 Kontrollen (7 Männchen und 8 Weibchen) und 10 Mutanten (4 Männchen und 6 Weibchen) bestand.

2.7 Statistik

Zum Vergleich von Gruppen wurden alle Messgrößen zunächst als Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwerts (MW \pm SEM) dargestellt. Der statistische Vergleich von Gruppen erfolgte mittels zweifaktorieller Varianzanalyse (zweifaktorielle ANOVA, Faktor Genotyp, Faktor Geschlecht). Wenn angebracht wurde für *post hoc* Mehrfachvergleiche der Bonferroni-Test angewandt.

Zum Vergleich körpergewichtsabhängiger Parameter (metabolisierte Energie, Energieverbrauch, Körpergewichtsreduktion in Folge der *Challenge*-Experimente) wurden ein statistischer Vergleich der auf das Körpergewicht normalisierten Parameter mittels multipler Regressionsanalyse durchgeführt. Ließ die Datenlage, beispielsweise durch das Auftreten von Multikollinearitäten, diesen Vergleich nicht zu, so wurden die körpergewichtsabhängigen Parameter in Abhängigkeit vom Körpergewicht graphisch dargestellt und verglichen.

Die Darstellung der linearen Beziehung zwischen zwei Variablen erfolgte mittels Regression. Die Analyse der Korrelation zweier Parameter wurde mit dem Pearson-Product-Moment-Test durchgeführt. Die Stärke des linearen Zusammenhangs zweier Größen wurde durch den Pearson-Korrelationskoeffizienten (r^2) angegeben.

Für den statistischen Vergleich der Inzuchtlinien und der HWE007-Gruppen wurden die Signifikanzniveaus $p < 0.05$, $p < 0.01$ und $p < 0.001$ gewählt. Gleiche Buchstaben in den Abbildungen markieren signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen. Für den statistischen Vergleich der Mausmutantenlinien wurde das Signifikanzniveau auf $p < 0.05$ festgelegt.

Mit Ausnahme der multiplen Regressionsanalyse wurden alle statistischen Analysen mit der Software SigmaStat (Version 3.5, Jandel Scientific, Tübingen, Deutschland) durchgeführt. Für die Durchführung der multiplen Regression wurde das auf R-Statistics (<http://www.r-project.org>) basierende Programm JGR (Version 1.6, RoSuDa, Universität Augsburg, Deutschland) verwendet.

3 Ergebnisse

Im ersten Teil dieser Arbeit (3.1) soll anhand des metabolischen *Primärscreens* gezeigt werden, dass die untersuchten Inzuchtlinien stoffwechselphysiologische Unterschiede aufweisen.

Das zweite Kapitel (3.2) beschäftigt sich mit der primären metabolischen Phänotypisierung von MML. Hier wird die Verteilung der drei Hauptphänotypenklassen gezeigt. Weiterhin werden das chronische und das akute Futterreduktionsexperiment verglichen und die jeweilige Effizienz im Beitrag zur Detektion von phänotypischen Auffälligkeiten bewertet. Im dritten Kapitel (3.3) konnte die Reproduzierbarkeit der ermittelten Unterschiede anhand von MML, die mehrfach den Primärscreen durchlaufen haben, überprüft werden.

Abschließend (3.4) wird die umfassende metabolische Phänotypisierung der übergewichtigen MML HWE007 gezeigt.

3.1 Metabolische Phänotypisierung von Inzuchtlinien

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Inzuchtlinien 129/SvJ, AKR/J, C57BL/6J, Balb/cJ, C3HeB/FeJ und SWR/J im Alter von 18 ± 1 Wochen einer primären metabolischen Phänotypisierung unterzogen.

3.1.1 Körpergewicht

Die Inzuchtlinien unterschieden sich im Körpergewicht signifikant voneinander (vergl. Abb. 12 und Tab. 2 am Kapitelende) und ließen sich in eine Gruppe schwerer und eine Gruppe leichter Mäuse unterteilen. In beiden Geschlechtern waren die Mäuse der Linien AKR/J und C3HeB/FeJ signifikant schwerer als die Mäuse der Linien 129/SvJ, C57BL/6J, Balb/cJ und SWR/J. Die Linien C57BL/6J- und SWR/J-Mäusen wiesen das niedrigste Körpergewicht auf, so dass die Körpergewichtsdifferenz zwischen der leichtesten und der schwersten Linie bei den Männchen 10.6 g (27 %, $p < 0.001$; 2-faktorielle ANOVA mit anschließendem Post-Hoc Test nach Bonferroni) und bei den

Weibchen 13.9 g (38 %, $p < 0.001$) betrug. Im Vergleich der Geschlechter zeigten die Männchen aller sechs Linien ein signifikant höheres Körpergewicht als die Weibchen. Die durchschnittliche Gewichts Differenz zwischen männlichen und weiblichen Mäusen betrug 5.1 g (16 %), allerdings fiel auf, dass der geschlechtsspezifische Unterschied bei den beiden schweren Linien niedriger war als bei den vier leichten Linien (2.8 g vs. 6.2 g, $p < 0.05$).

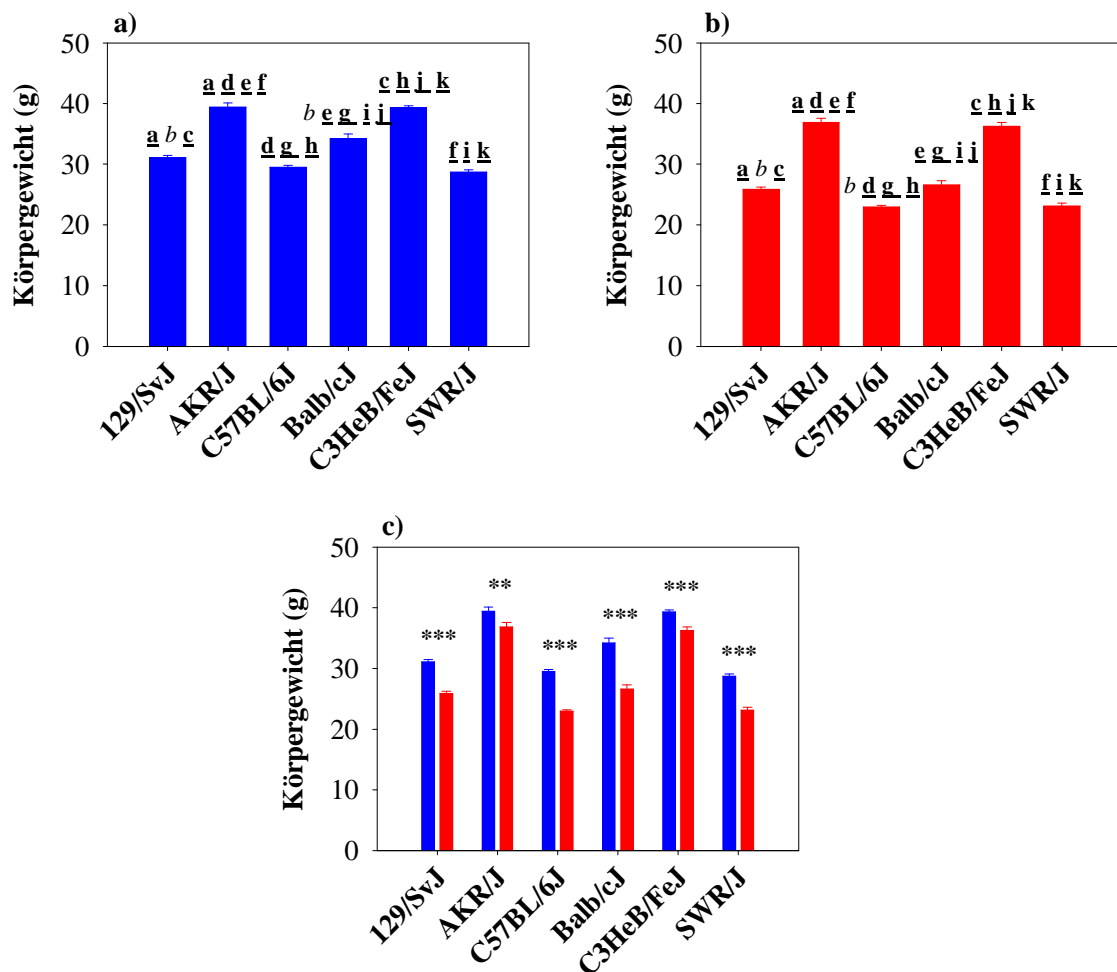


Abb. 11:

Linienspezifische Unterschiede im Körpergewicht

Körpergewicht der Männchen (a) und Weibchen (b). Mit gleichen Buchstaben markierte Linien wiesen untereinander einen signifikanten Unterschied im Körpergewicht auf (*kursiv*: $p < 0.05$, unterstrichen: $p < 0.001$). Geschlechtsunterschiede im Körpergewicht (c). Männchen wurden blau, Weibchen rot dargestellt. (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Alle Werte wurden als Mittelwert + Standardfehler (MW + SEM) dargestellt. 129/SvJ: m: n = 12, w: n = 10; AKR/J: m: n = 22, w: n = 13; C57BL/6J: m: n = 71, w: n = 43; Balb/cJ: m: n = 18, w: n = 17; C3HeB/FeJ: m: n = 67, w: n = 32; SWR/J: m: n = 34, w: n = 31.

3.1.2 Metabolisierte Energie

Zeitgleich mit dem Messbeginn jeder neuen Mutantenlinie wurde als Qualitätskontrolle für gleich bleibende Futtereigenschaften der Energiegehalt der Futterproben bestimmt. Die Mittelwerte variierten zwischen 16.68 und 17.41 kJ g^{-1} (Abb. 12). Der durchschnittliche Energiegehalt des Futters betrug $16.97 \pm 0.03 \text{ kJ g}^{-1}$.

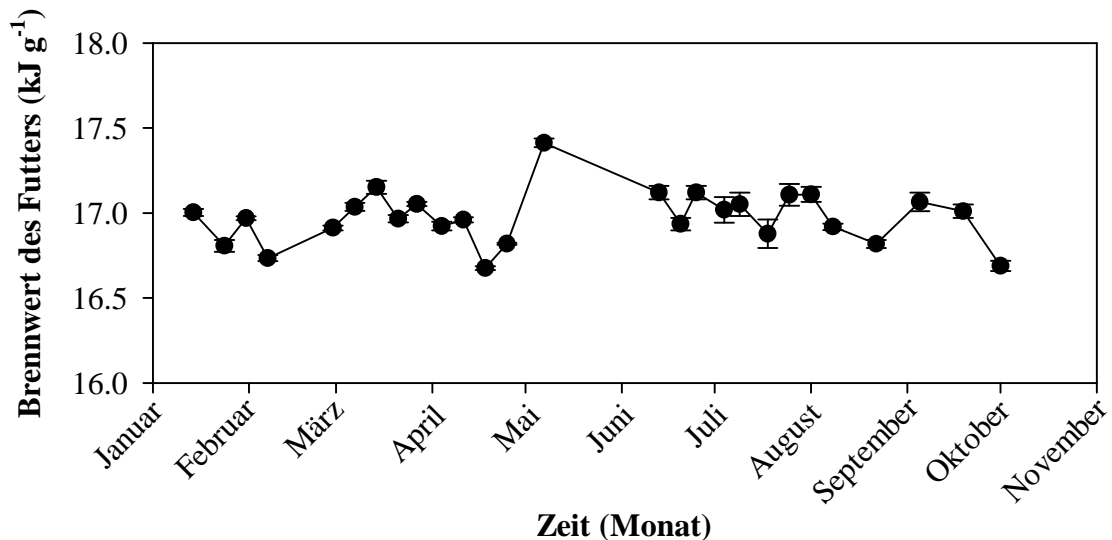


Abb. 12:

Energiegehalt des Futters am Beispiel des Jahres 2007

Dargestellt wurden die Mittelwerte je Kontrollbestimmung ($n = 5 - 7$) als $\text{MW} \pm \text{SEM}$.

Durchschnittlich nahmen Mäuse aus Inzuchtlinien $3.7 \pm 0.1 \text{ g d}^{-1}$ Futter auf. AKR/J- und C57BL/6J-Mäuse konsumierten am wenigsten Futter, während die Futteraufnahme der Linien C3HeB/FeJ und SWR/J am höchsten lag (vergl. Tab. 2).

In Abbildung 14 a und b wurde anhand der Linien C3HeB/FeJ vs. C57BL/6J und AKR/J vs. SWR/J beispielhaft gezeigt, dass sich im Vergleich der Linien die Futteraufnahme nicht proportional zum Körpergewicht verhält. Bei gleichem Körpergewicht würden C3HeB/FeJ- bzw. AKR/J-Mäuse mehr Futter aufnehmen als C57BL/6J- bzw. SWR/J-Mäuse.

Um den Futtermverbrauch unter Berücksichtigung des unterschiedlichen Körpergewichts vergleichen zu können, wurde zunächst der massespezifische Futtermverbrauch ($\text{g}_{\text{Futter}} \text{g}_{\text{Maus}}^{-1} \text{d}^{-1}$) berechnet. Dass diese Vorgehensweise das Risiko einer Fehlbeurteilung in sich trägt, zeigte sich am Beispiel des direkten Vergleichs von C57BL/6J- und

C3HeB/FeJ-Mäusen (Abb. 13). Der massespezifische Futterverbrauch von C57BL/6J-Mäusen (m: $0.12 \pm <0.00 \text{ g}_{\text{Futter}} \text{ g}_{\text{Maus}}^{-1} \text{ d}^{-1}$, w: $0.15 \pm <0.00 \text{ g}_{\text{Futter}} \text{ g}_{\text{Maus}}^{-1} \text{ d}^{-1}$) lag über dem der C3HeB/FeJ-Mäuse (m: $0.11 \pm <0.00 \text{ g}_{\text{Futter}} \text{ g}_{\text{Maus}}^{-1} \text{ d}^{-1}$, w: $0.12 \pm <0.00 \text{ g}_{\text{Futter}} \text{ g}_{\text{Maus}}^{-1} \text{ d}^{-1}$). Eine Darstellung des absoluten Futterverbrauchs in Bezug auf das Körpergewicht (Abb. 14) zeigte jedoch, dass Mäuse der Linie C3HeB/FeJ bei gleichem Körpergewicht mehr Futter verbrauchen würden als Mäuse der Linie C57BL/6J. Der statistische Vergleich des auf das Körpergewicht normalisierten Futterverbrauchs bestätigte den vergleichsweise höheren Futterverbrauch der C3HeB/FeJ-Mäuse.

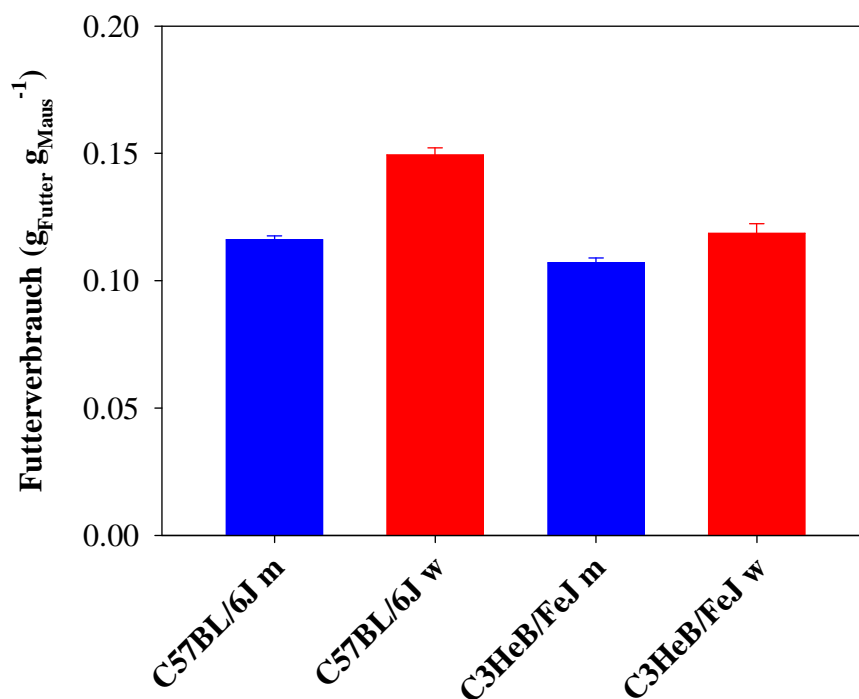
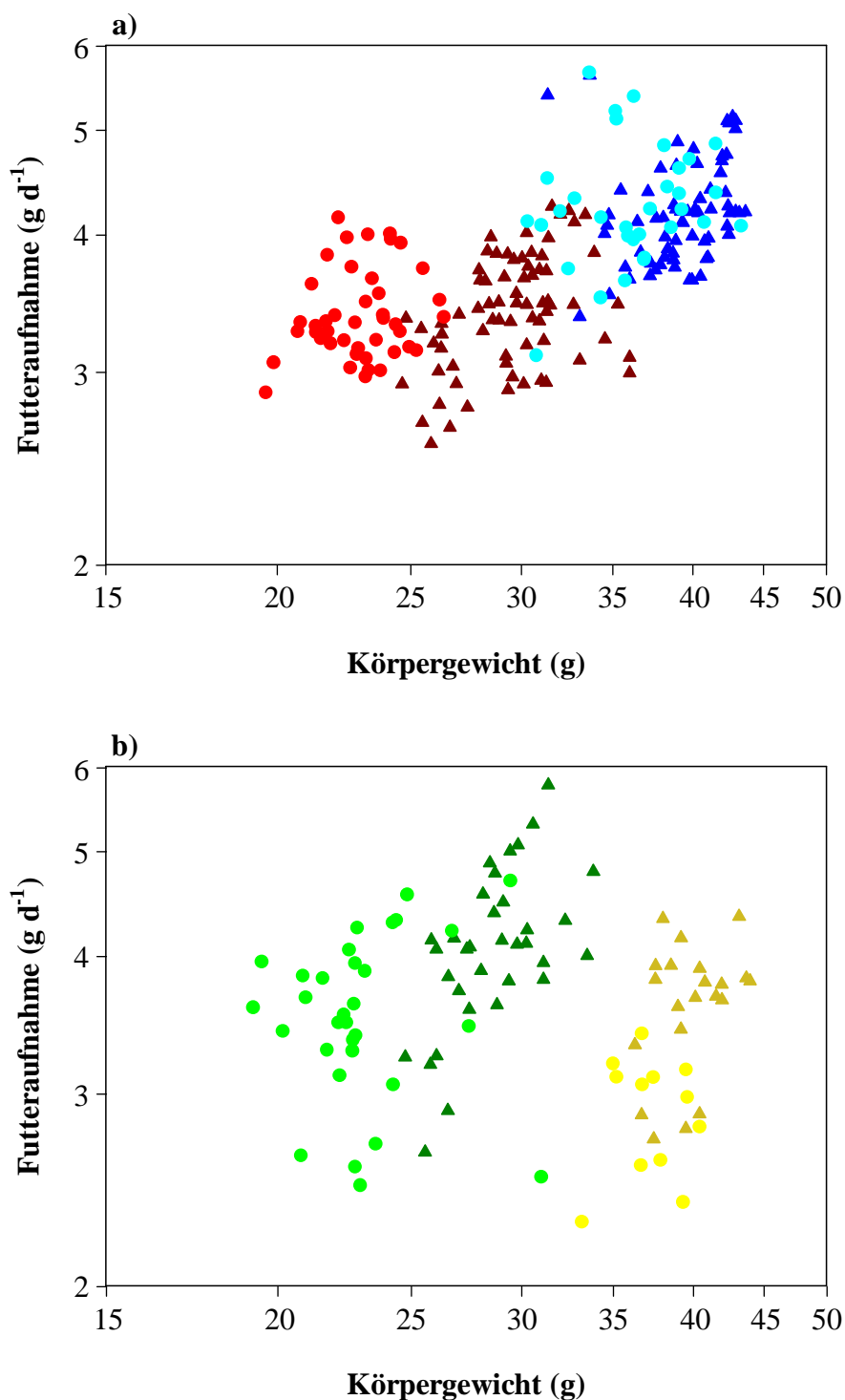


Abb. 13:

Massespezifischer Futterverbrauch der Inzuchtlinien C57BL/6J und C3HeB/FeJ

C3HeB/FeJ m: n = 67; w: n = 32; C57BL/6J m: n = 71, w: n = 43). Mittelwerte + SEM..

**Abb. 14:****Futtermittelaufnahme in Abhängigkeit vom Körpergewicht am Beispiel der Inzuchtlinien C3HeB/FeJ vs. C57BL/6J bzw. AKR/J vs. SWR/J**

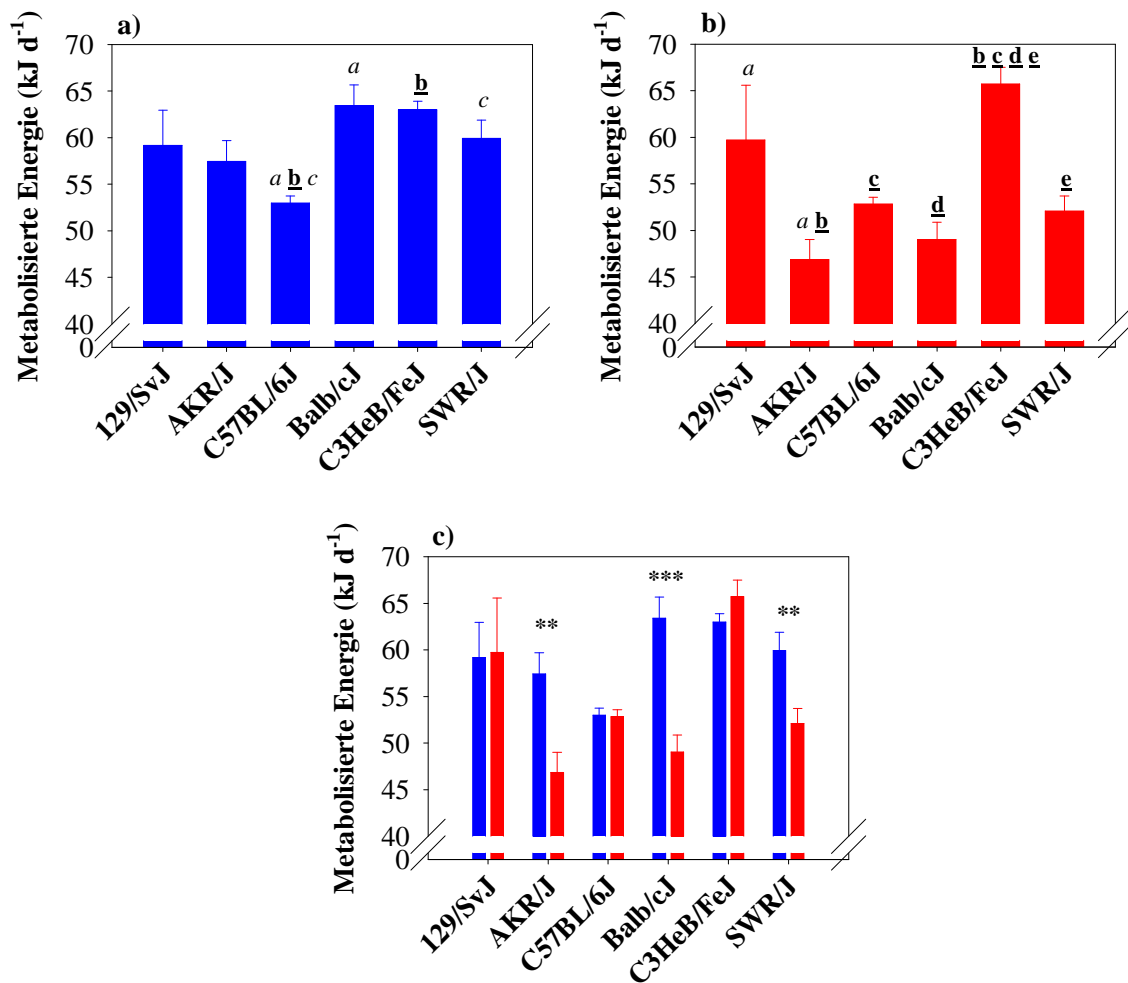
a) Logarithmische Auftragung der Futtermittelaufnahme der Linien C3HeB/FeJ. (Männchen (\blacktriangle), $n = 67$; Weibchen (\bullet), $n = 32$) und C57BL/6J (Männchen (\blacktriangle), $n = 71$; Weibchen (\bullet), $n = 43$) in Abhängigkeit vom Körpergewicht.

b) Logarithmische Auftragung der Futtermittelaufnahme der Linien AKR/J (Männchen (\blacktriangle), $n = 22$; Weibchen (\bullet), $n = 13$) und SWR/J (Männchen (\blacktriangle), $n = 34$; Weibchen (\bullet), $n = 31$) in Abhängigkeit vom Körpergewicht.

Zur Berechnung der Energieaufnahme wurde die Futteraufnahme mit dem Brennwert des Futters multipliziert (vergl. Tab. 2). Anschließend wurde die assimilierte Energie aus der Differenz der mit dem Futter aufgenommenen und der über den Kot abgegebenen Energie bestimmt. Zur Berechnung der metabolisierten Energie wurde zusätzlich der Energieverlust über den Urin berücksichtigt, der ca. 2 % der aufgenommenen Energie beträgt (Schätzwert aus der Literatur, Drozd et al. 1975; Heldmaier und Neuweiler 2004).

Die Mäuse aller Linien metabolisierten durchschnittlich $57.04 \pm 1.65 \text{ kJ d}^{-1}$ (vergl. Tab. 1 und Abb. 15).

Männliche C57BL/6J-Mäuse metabolisierten den geringsten und Balb/cJ- bzw. C3HeB/FeJ-Mäuse den höchsten Energiebetrag ($\Delta E_{\text{met}} = 10.44 \text{ kJ d}^{-1}$, $p < 0.001$). Bei den Weibchen metabolisierten AKR/J-Mäuse am wenigsten und C3HeB/FeJ-Mäuse am meisten Energie ($\Delta E_{\text{met}} = 18.86 \text{ kJ d}^{-1}$, $p < 0.001$). Im Vergleich der Männchen mit den Weibchen kann keine generelle Aussage getroffen werden. AKR/J-, Balb/cJ- und SWR/J-Männchen metabolisierten mehr Energie als die Weibchen. Bei 129/SvJ, C57BL/6J und C3HeB/FeJ gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern, wobei C3HeB/FeJ-Weibchen im Mittel über den Männchen lagen.

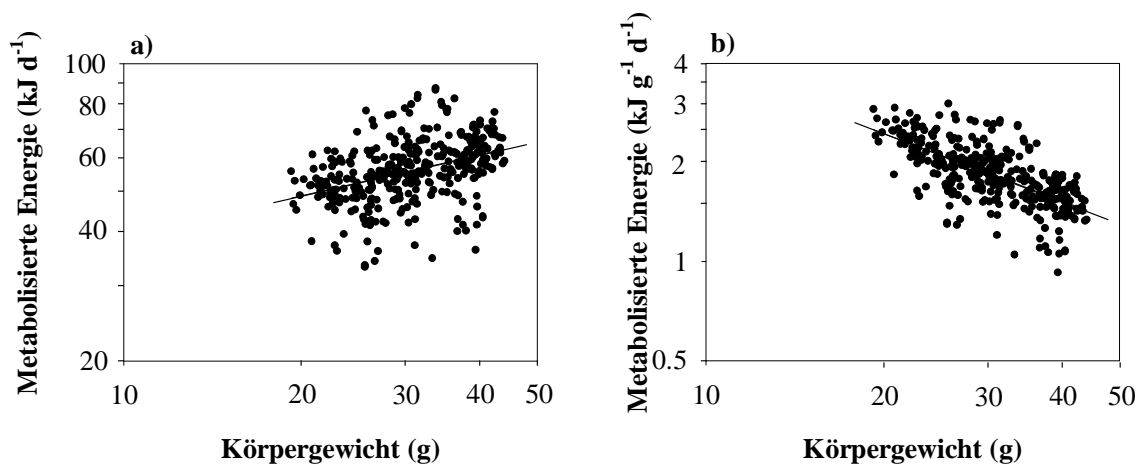
**Abb. 15:****Linienspezifische Unterschiede in der metabolisierten Energie**

Metabolisierte Energie der Männchen (a) und Weibchen (b). Mit gleichen Buchstaben markierte Linien wiesen untereinander einen signifikanten Unterschied auf (*kursiv*: $p < 0.05$, unterstrichen: $p < 0.001$).

Geschlechtsunterschiede der metabolisierten Energie (c). Männchen wurden blau, Weibchen rot dargestellt. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Alle Werte wurden als MW + SEM dargestellt.

129/SvJ: m: n = 12, w: n = 10; AKR/J: m: n = 22, w: n = 13; C57BL/6J: m: n = 71, w: n = 43; Balb/cJ: m: n = 18, w: n = 17; C3HeB/FeJ: m: n = 67, w: n = 32; SWR/J: m: n = 34, w: n = 31.

Die metabolisierte Energie war positiv mit dem Körpergewicht korreliert (Abb. 16 a). Um die einzelnen Linien trotz der unterschiedlichen Körpergewichte vergleichen zu können, wurde zunächst die massespezifische metabolisierte Energie ($\text{kJ g}_{\text{Maus}}^{-1}$) berechnet. Dass der Einfluss des Körpergewichts durch diese Vorgehensweise nicht eliminiert wurde, zeigte eine erneute Auftragung der massespezifischen metabolisierten Energie gegen das Körpergewicht (Abb. 16 b). Die korrigierten Werte waren negativ mit dem Körpergewicht korreliert.

**Abb. 16:****Metabolisierte Energie der Inzuchtlinien**

a) Metabolisierte Energie. $\text{LogE}_{\text{met}} = 1.274 + 0.320 \cdot \log \text{BM}$, $r^2 = 0.15$, $p < 0.001$, $n = 453$

b) Massenspezifische Metabolisierte Energie. $\text{LogE}_{\text{met}} = 1.274 - 0.680 \cdot \log \text{BM}$, $r^2 = 0.45$, $p < 0.001$, $n = 453$

Um einen Vergleich der metabolisierten Energie unabhängig vom Einfluss des Körpergewichts durchführen zu können, wurde eine statistische Analyse der auf das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie durchgeführt (Tab. 1). Die im direkten Vergleich der Absolutwerte gleichschwerer Mäuse getroffene Aussagen wurden bestätigt: C3HeB/FeJ-Mäuse metabolisierten einen höheren Energiebetrag als AKR/J-Mäuse ($p < 0.001$) und SWR/J-Mäuse metabolisierten mehr Energie als C57BL/6J-Mäuse ($p < 0.001$). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass C3HeB/FeJ-Mäuse signifikant mehr Energie metabolisierten als C57BL/6J-Mäuse ($p < 0.05$) und dass SWR/J-Mäuse eine größere Menge Energie metabolisierten als Mäuse der Linie Balb/cJ ($p < 0.05$).

Das bei den Körpergewichtsunterschieden gefundene Muster deckte sich nicht mit den Verhältnissen, die beim Vergleich der metabolisierten Energie gefunden wurden. Schwere bzw. leichte Mäuse metabolisierten folglich nicht generell einen systematisch höheren oder niedrigeren Energiebetrag.

Tab. 1:**Statistischer Vergleich der metabolisierten Energie unter Berücksichtigung des Körpergewichts**

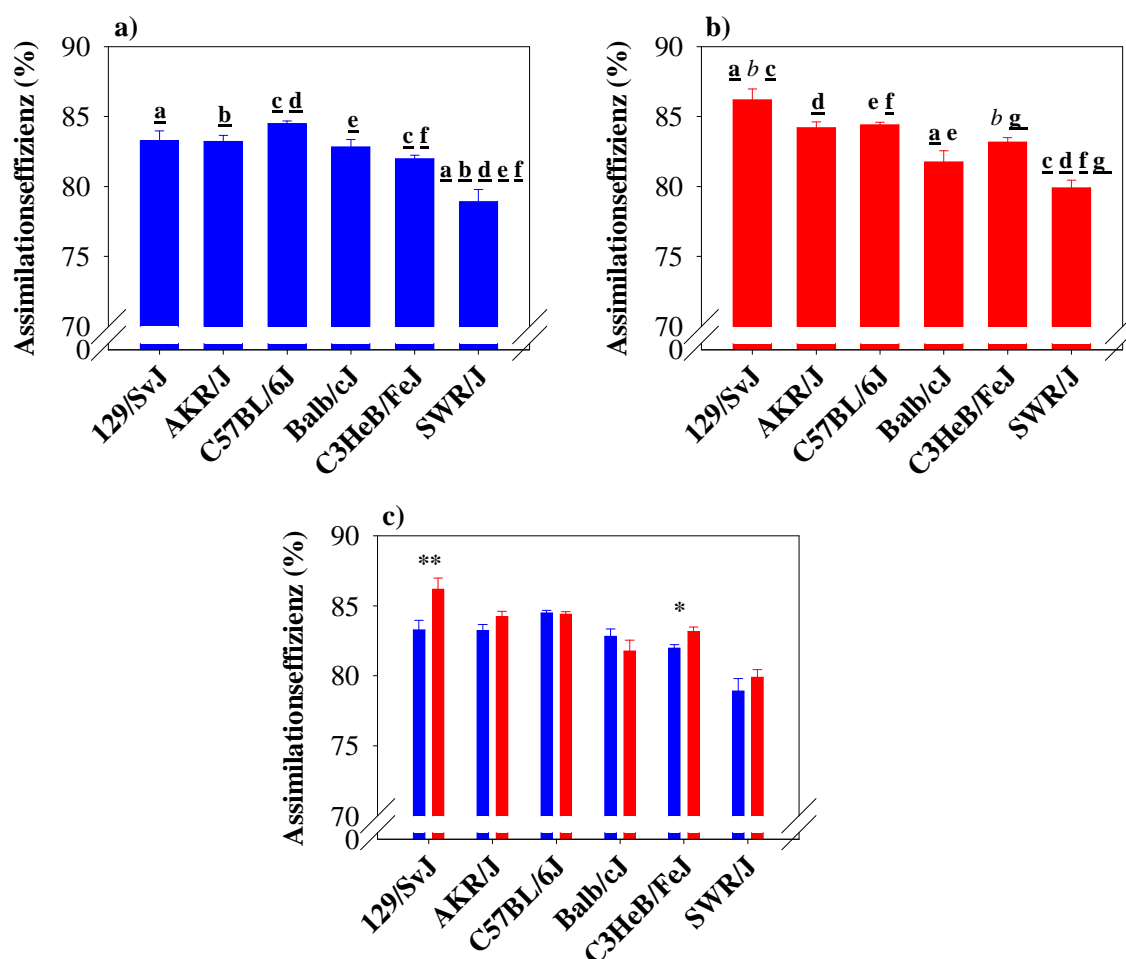
Signifikante Unterschiede wurden durch Sternchen dargestellt (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) und durch den Liniennamen der Linie mit der vergleichsweise höheren metabolisierten Energie ergänzt.

Metabolisierte Energie	129/SvJ	AKR/J	C57BL/6J	Balb/cJ	C3HeB/FeJ	SWR/J
129/SvJ		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
AKR/J	n.s.		n.s.	n.s.	*** C3HeB/FeJ↑	n.s.
C57BL/6J	n.s.	n.s.		n.s.	* C3HeB/FeJ↑	*** SWR/J↑
Balb/cJ	n.s.	n.s.	n.s.		n.s.	* SWR/J↑
C3HeB/FeJ	n.s.	*** C3HeB/FeJ↑	* C3HeB/FeJ↑	n.s.		n.s.
SWR/J	n.s.	n.s.	*** SWR/J↑	* SWR/J↑	n.s.	

3.1.3 Assimilationseffizienz

Die Assimilationseffizienz wurde anhand des prozentualen Anteils der metabolisierten Energie aus der gesamt aufgenommenen Energiemenge berechnet. Hier fiel besonders die Linie SWR/J auf, die die niedrigste Assimilationseffizienz zeigte (vergl. Tab. 1 und Abb. 17). In der Gruppe der weiblichen Tiere war die Assimilationseffizienz der SWR/J-Mäuse signifikant niedriger als die der übrigen fünf Linien. In der Gruppe der Männchen war sie signifikant niedriger als die Assimilationseffizienz der Linien 129/SvJ, AKR/J, C57BL/6J, und C3HeB/FeJ.

Die Linien 129/SvJ und C3HeB/FeJ zeigten einen signifikanten Geschlechtsunterschied. Die Weibchen dieser Linien metabolisierten einen prozentual höheren Energieanteil aus dem aufgenommenen Futter.

**Abb. 17:****Linienspezifische Unterschiede in der Assimilationseffizienz**

Assimilationseffizienz der Männchen (a) und der Weibchen (b). Mit gleichen Buchstaben markierte Linien wiesen untereinander einen signifikanten Unterschied im Körpergewicht auf (*kursiv*: $p < 0.05$, **fett**: $p < 0.01$, unterstrichen: $p < 0.001$).

c) Vergleich der Assimilationseffizienz männlicher und weiblicher Tiere (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Alle Werte wurden als MW + SEM dargestellt. 129/SvJ: m: n = 12, w: n = 10; AKR/J: m: n = 22, w: n = 13; C57BL/6J: m: n = 71, w: n = 43; Balb/cJ: m: n = 18, w: n = 17; C3HeB/FeJ: m: n = 67, w: n = 32; SWR/J: m: n = 34, w: n = 31.

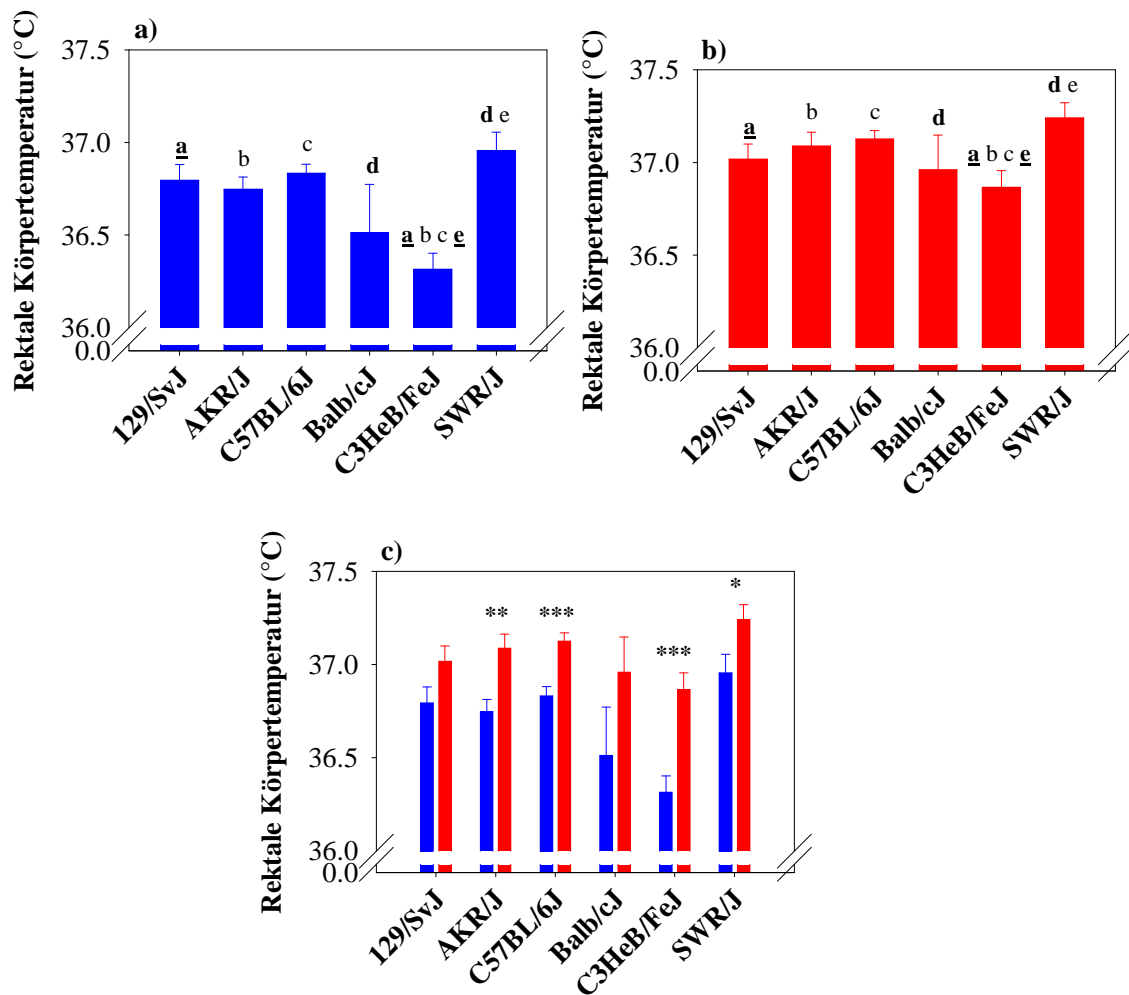
3.1.4 Rektale Körpertemperatur

Auch in der Körpertemperatur wiesen die Inzuchtlinien signifikante Unterschiede auf (vergl. Abb. 18 und Tab. 1). Mit Ausnahme der Balb/cJ-Mäuse, die durch eine hohe Varianz der Körpertemperatur innerhalb der Linie auffielen (Männchen: 35.1 °C bis 38.2 °C, Weibchen: 35.7 °C bis 37.9 °C), war die Körpertemperatur bei allen Linien signifikant höher als bei C3HeB/FeJ. Die Spannweite zwischen der Linie mit der niedrigsten (C3HeB/FeJ) und der höchsten Körpertemperatur (SWR/J) betrug bei den Männchen 0.6 °C und bei den Weibchen 0.3 °C ($p < 0.001$).

Im Vergleich der Körpertemperatur nach Geschlechtern zeigte sich, dass die Körpertemperatur der Weibchen durchschnittlich 0.4 °C über der der Männchen lag. Der Unterschied war bei den Mäusen der Linien AKR/J, C57BL/6J, C3HeB/FeJ und SWR/J signifikant. Innerhalb dieser vier Linien wiesen C3HeB/FeJ-Mäuse den größten Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Tieren auf (ΔT_b : 0.6 °C, $p < 0.001$), während die Differenz bei SWR/J-Mäusen am geringsten war (ΔT_b : 0.3 °C, $p < 0.05$).

Insgesamt war die Körpertemperatur nicht mit dem Körpergewicht korreliert.

Auch in der rektalen Körpertemperatur spiegelte sich die in Abschnitt 3.1.1 getroffene Einteilung in leichte und schwere Mäuse nicht wieder. Leichtere bzw. schwerere Mäuse zeigten unter *ad libitum* Bedingungen keine systematisch niedrigere bzw. höhere Körpertemperatur.

**Abb. 18:****Linienspezifische Unterschiede in der rektalen Körpertemperatur**

Rektale Körpertemperatur der Männchen (a) und Weibchen (b). Mit gleichen Buchstaben markierte Linien wiesen untereinander einen signifikanten Unterschied im Körpergewicht auf (*kursiv*: $p < 0.05$, **unterstrichen**: $p < 0.001$). Geschlechtsunterschiede in der rektalen Körpertemperatur (c). Männchen wurden blau, Weibchen rot dargestellt. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). Alle Werte wurden als MW + SEM dargestellt. 129/SvJ: m: $n = 12$, w: $n = 10$; AKR/J: m: $n = 22$, w: $n = 13$; C57BL/6J: m: $n = 71$, w: $n = 43$; Balb/cJ: m: $n = 18$, w: $n = 17$; C3HeB/FeJ: m: $n = 67$, w: $n = 32$; SWR/J: m: $n = 34$, w: $n = 31$.

Tab. 2:**Übersicht aller unter *ad libitum* Bedingungen erhobenen Werte der Inzuchtlinien**Die Werte wurden als MW \pm SEM dargestellt. CV = Variationskoeffizient.

<i>ad libitum</i>	129/SvJ		AKR/J		C57BL/6J		Balb/cJ		C3HeB/FeJ		SWR/J	
	♂ n=12	♀ n=10	♂ n=22	♀ n=13	♂ n=71	♀ n=43	♂ n=18	♀ n=17	♂ n=67	♀ n=32	♂ n=34	♀ n=31
Körpergewicht (g)	31.1 ± 0.3	25.9 ± 0.3	38.5 ± 0.5	36.9 ± 0.7	29.5 ± 0.3	23.0 ± 0.2	34.2 ± 0.8	26.6 ± 0.7	39.3 ± 0.3	36.2 ± 0.6	28.7 ± 0.4	23.1 ± 0.5
Rektale Körpertemperatur (°C)	36.8 ± 0.1	37.0 ± 0.1	36.7 ± 0.1	37.1 ± 0.1	36.8 ± 0.0	37.1 ± 0.0	36.5 ± 0.3	37.0 ± 0.2	36.3 ± 0.1	36.9 ± 0.1	36.9 ± 0.1	37.2 ± 0.1
Futtermaufnahme (g d⁻¹)	3.8 ± 0.2	3.7 ± 0.3	3.6 ± 0.1	3.0 ± 0.1	3.5 ± 0.0	3.4 ± 0.0	4.1 ± 0.1	3.2 ± 0.1	4.2 ± 0.1	4.3 ± 0.1	4.1 ± 0.1	3.6 ± 0.1
Energieaufnahme (kJ d⁻¹)	70.71 ± 3.94	68.85 ± 6.18	66.99 ± 1.85	55.58 ± 2.46	63.78 ± 0.93	62.73 ± 0.84	76.42 ± 2.39	59.85 ± 1.99	78.25 ± 1.03	79.66 ± 1.03	75.58 ± 2.09	65.20 ± 1.92
Kotproduktion (g d⁻¹)	0.66 ± 0.01	0.51 ± 0.02	0.63 ± 0.02	0.49 ± 0.02	0.58 ± 0.01	0.60 ± 0.01	0.73 ± 0.02	0.62 ± 0.03	0.80 ± 0.01	0.80 ± 0.02	0.91 ± 0.04	0.77 ± 0.04
Energiegehalt des Kots (kJ g⁻¹)	15.75 ± 0.12	15.62 ± 0.17	16.21 ± 0.08	15.83 ± 0.06	15.87 ± 0.05	15.81 ± 0.07	16.02 ± 0.08	15.72 ± 0.07	16.02 ± 0.05	15.95 ± 0.05	15.88 ± 0.08	15.60 ± 0.07
Metabolisierte Energie (kJ d⁻¹)	59.16 ± 3.81	59.71 ± 5.87	57.43 ± 2.25	46.85 ± 2.17	52.98 ± 0.76	52.82 ± 0.74	63.42 ± 2.25	49.03 ± 1.83	62.99 ± 0.90	65.71 ± 1.80	59.93 ± 1.97	52.11 ± 1.58
Assimilationskoeffizient (%)	83.3 ± 0.7	86.2 ± 0.8	83.2 ± 0.4	84.2 ± 0.4	84.5 ± 0.02	84.4 ± 0.2	82.8 ± 0.5	81.8 ± 0.8	82.0 ± 0.3	83.2 ± 0.03	78.9 ± 0.9	77.8 ± 0.3
CV Körpergewicht	4.0	4.3	8.1	7.2	8.3	7.0	10.1	10.6	7.1	9.4	8.0	11.3
CV Rektale Körpertemperatur	0.8	0.7	0.8	0.7	1.1	0.8	3.0	2.1	1.8	1.7	1.6	1.2
CV Futtermaufnahme	19.2	28.2	13.0	16.0	11.6	9.8	13.6	13.6	10.3	7.7	16.3	16.8
CV metabolisierte Energie	22.3	31.1	18.4	16.7	11.6	8.4	15.0	15.4	11.1	8.1	19.2	16.9
CV Assimilationskoeffizient	2.8	2.9	2.5	1.7	1.8	1.3	2.7	4.0	2.5	2.8	6.5	3.8

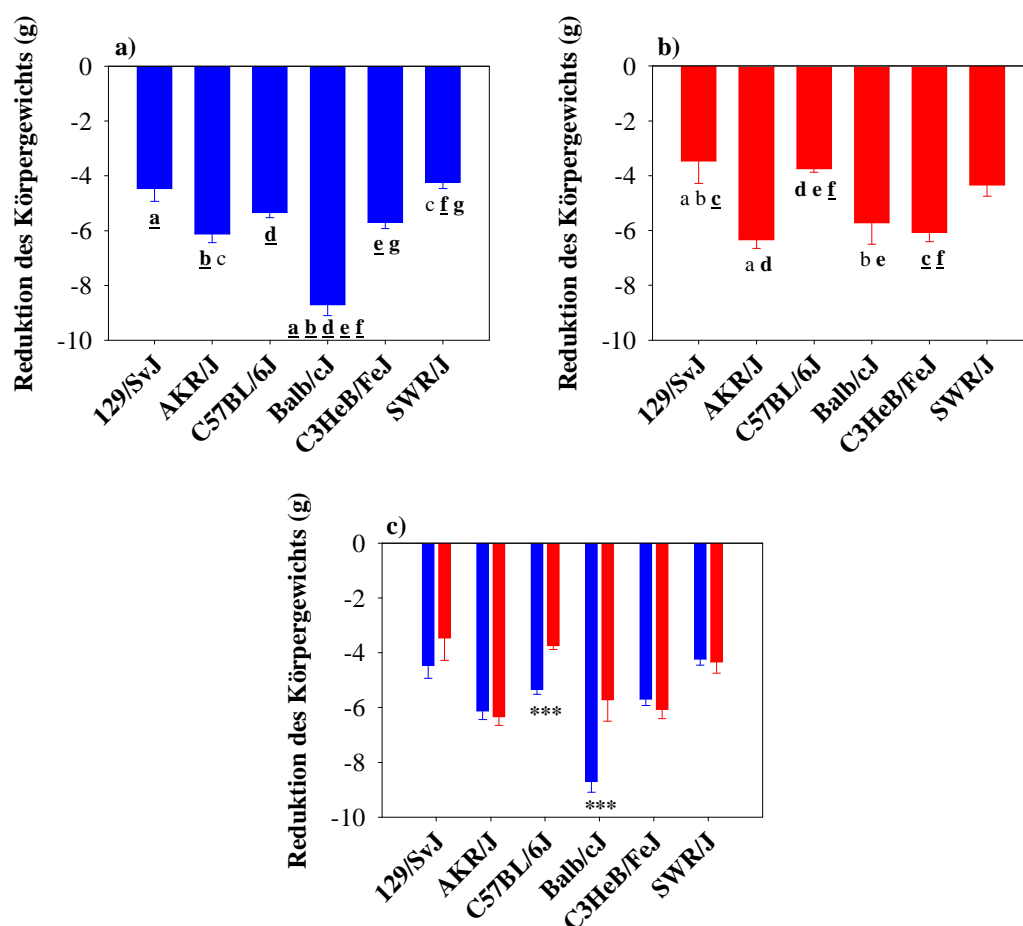
3.1.5 *Challenge* durch chronischen Futterreduktion

Nachdem die metabolischen Parameter unter *ad libitum* Bedingungen untersucht wurden, wurde ein *Challenge*-Experiment durchgeführt. Im Rahmen dieses Experiments wurden die Mäuse für die Dauer einer Woche mit einer, im Vergleich zum *ad libitum* Futterverbrauch, um 40 % reduzierten Futterportion konfrontiert, um so die Reaktion auf ein Energiedefizit beurteilen zu können.

Die verschiedenen Linien reagierten in unterschiedlicher Weise auf die Futterreduktion (Abb. 19, 21 und vergl. Tab. 4 am Kapitelende). Alle sechs Linien nahmen im Verlauf des Experiments durchschnittlich 5.4 g (17 %) ab und waren am letzten Tag der Futterreduktion signifikant leichter als unter *ad libitum* Bedingungen ($p < 0.001$). Die stärkste Reaktion auf die 40 %ige Futterreduktion zeigten Balb/cJ-Männchen, die während des Experiments durchschnittlich 8.7 g (25 %) abnahmen.

Die Körpergewichtsabnahme war mit dem Ausgangskörpergewicht korreliert. Mäuse mit höherem Ausgangsgewicht verloren während der Futterreduktion mehr Gewicht als leichte Mäuse (Abb. 20).

Ein statistischer Vergleich der auf das Ausgangsgewicht normalisierten Körpergewichtsabnahme unter bestätigte die vergleichsweise starke Körpergewichtsreduktion der Balb/cJ-Mäuse (Tab. 3). Sie verloren während der Futterreduktionsphase mehr Körpergewicht als Mäuse der Linien 129/SvJ, C57BL/6J, C3HeB/FeJ, und SWR/J ($p < 0.001$ bzw. $p < 0.05$). Weiterhin verloren unter Berücksichtigung des Ausgangskörpergewichts 129/SvJ-Mäuse mehr Körpergewicht als Mäuse der Linien C57BL/6J und C3HeB/FeJ. ($p < 0.5$ bzw. $p < 0.001$). SWR/J-Mäuse zeigten einen geringeren Körpergewichtsverlust als C3H-Mäuse ($p < 0.01$)

**Abb. 19:****Linien spezifische Unterschiede in der Körpergewichtsreduktion unter 40%iger Futterreduktion**

Körpergewichtsreduktion der Männchen (a) und Weibchen (b). Mit gleichen Buchstaben markierte Linien wiesen untereinander einen signifikanten Unterschied auf (*kursiv*: $p < 0.05$, **fett**: $p < 0.01$, unterstrichen: $p < 0.001$).

Geschlechtsunterschiede der Körpergewichtsreduktion (c). Männchen wurden blau, Weibchen rot dargestellt (***) $p < 0.001$). Alle Werte wurden als MW + SEM dargestellt.

129/SvJ: m: n = 12, w: n = 10; AKR/J: m: n = 15, w: n = 6; C57BL/6J: m: n = 71, w: n = 43; Balb/cJ: m: n = 13, w: n = 11; C3HeB/FeJ: m: n = 67, w: n = 32; SWR/J: m: n = 21, w: n = 19.

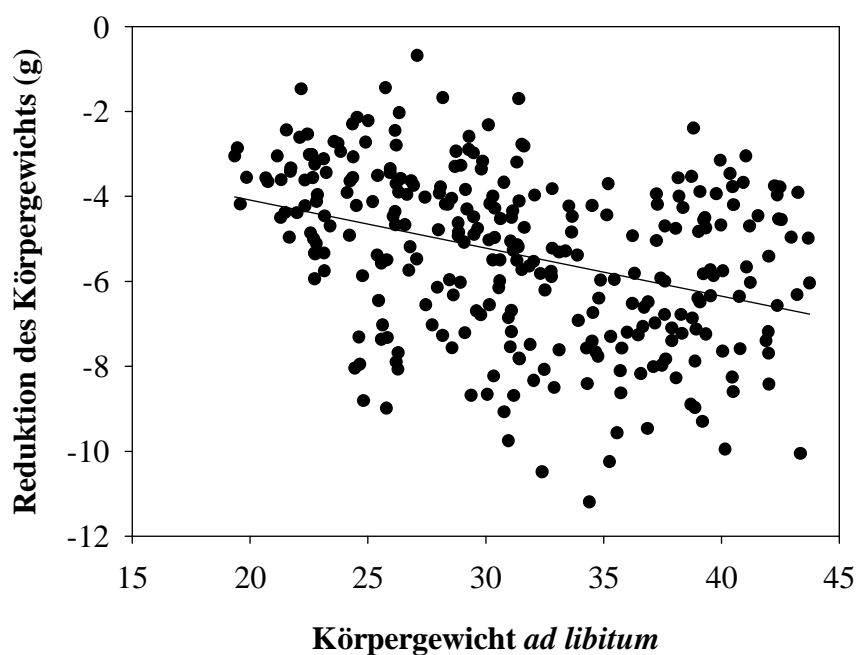


Abb. 20:

Reduktion des Körpergewichts in Abhängigkeit vom Ausgangskörpergewicht

$BM_{red} = 0.113 - 1.830 \cdot BM$, $r^2 = 0.13$, $p < 0.001$, $n = 320$

Tab. 3:

Statistischer Vergleich der Körpergewichtsabnahme unter Berücksichtigung des Ausgangskörpergewichts

Signifikante Unterschiede wurden durch Sternchen dargestellt (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$) und durch den Liniennamen der Linie mit der vergleichsweise höheren Körpergewichtsabnahme ergänzt.

Körpergewichts- abnahme	129/SvJ	AKR/J	C57BL/6J	Balb/cJ	C3HeB/FeJ	SWR/J
129/SvJ		n.s.	* C57BL/6J↑	*** Balb/cJ↑	*** C3HeB/FeJ↑	n.s.
AKR/J	n.s.		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
C57BL/6J	* C57BL/6J↑	n.s.		*** Balb/cJ↑	n.s.	n.s.
Balb/cJ	*** Balb/cJ↑	n.s.	*** Balb/cJ↑		* Balb/cJ↑	*** Balb/cJ↑
C3HeB/FeJ	*** C3HeB/FeJ↑	n.s.	n.s.	* Balb/cJ↑		** C3HeB/FeJ↑
SWR/J	n.s.	n.s.	n.s.	*** Balb/cJ↑	** C3HeB/FeJ↑	

Neben der Nutzung der Energiereserven des Körpers, die sich in einer Körpergewichtsabnahme bemerkbar macht, besteht auch die Möglichkeit die Reduktion des Energieangebots über eine Absenkung der Stoffwechselrate zu kompensieren. Eine niedrigere Körpertemperatur verringert den Gradienten zwischen Umgebungs- und Körpertemperatur, so dass eine geringere Thermogeneseleistung nötig wird und demzufolge Stoffwechselenergie eingespart werden kann (Klaus 1998).

Im Laufe des Futterreduktionsexperiments sank die Körpertemperatur der einzelnen Linien unterschiedlich stark (vergl. Tab. 4 und Abb. 21).

Bei den männlichen Mäusen sank die Körpertemperatur von fünf der sechs Linien (129/SvJ, AKR/J, C57BL/6J, C3HeB/FeJ, SWR/J) um 1.0 ± 0.1 °C, während die Körpertemperatur der Balb/cJ-Männchen um 0.5 ± 0.3 °C anstieg. Die Temperaturerhöhung der Balb/c-Männchen unter Futterreduktion wurde wiederholt gemessen und stellt kein Einzelereignis dar.

Bei allen Linien sank die Körpertemperatur der Weibchen im Versuchsverlauf um 0.9 ± 0.2 °C. Die höchste Differenz zur Körpertemperatur unter *ad libitum* Bedingungen zeigten 129/SvJ- und C57BL/6J-Mäuse ($\Delta T_{b,rec} = 1.4$ °C, $p < 0.001$), wohingegen die Körpertemperatur der Balb/cJ-Weibchen nur 0.2 ± 0.1 °C sank und somit, verglichen mit den übrigen Linien, die signifikant kleinste Körpertemperaturreduktion darstellte. Bei den männlichen Mäusen zeigten C57BL/6J und SWR/J-Mäuse die höchste Differenz zu ihren *ad libitum* Werten.

Ein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Körpertemperaturabsenkung konnte nur bei Balb/cJ-Mäusen festgestellt werden.

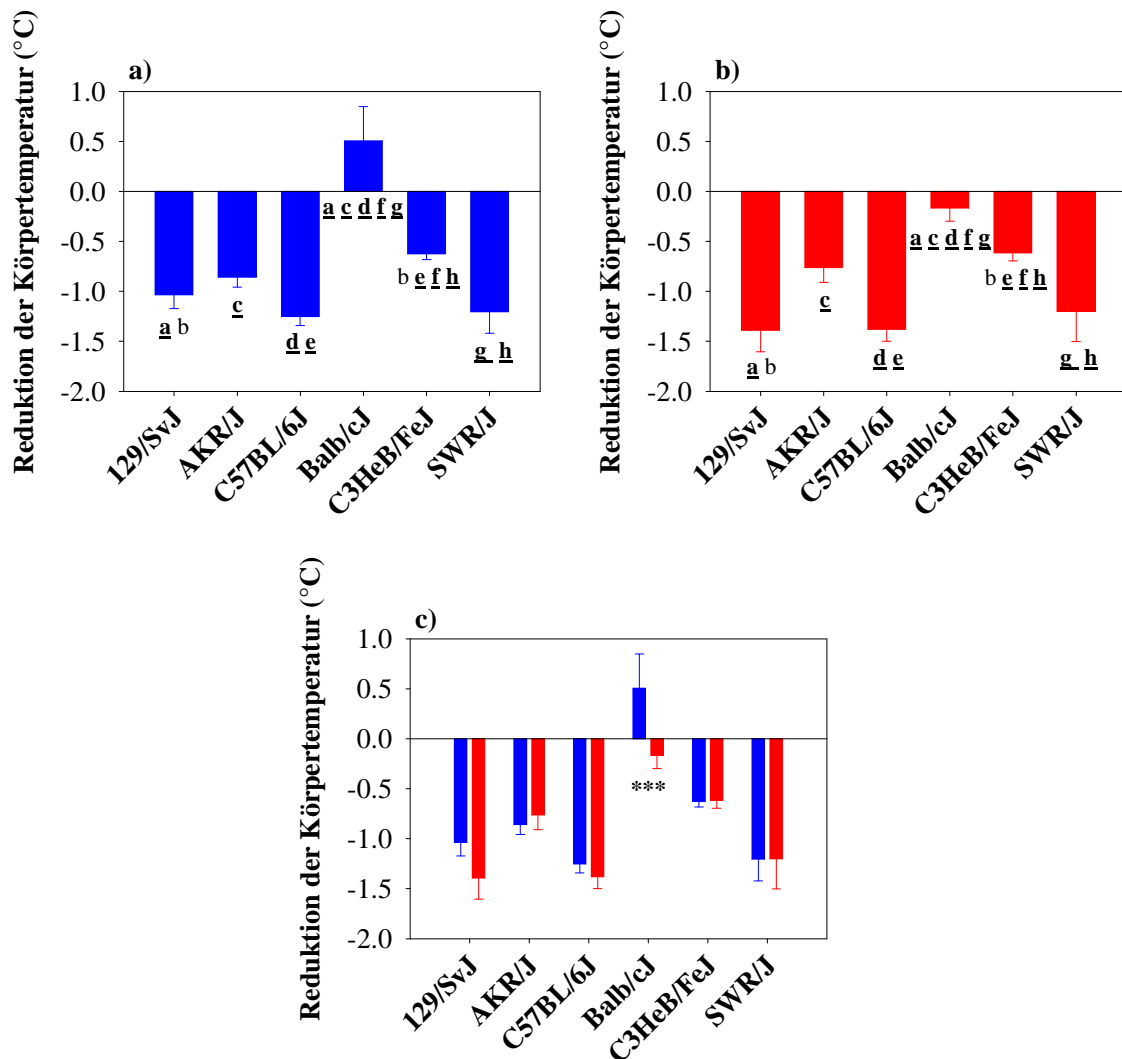


Abb. 21:

Linien spezifische Unterschiede in der Reduktion der Körpertemperatur

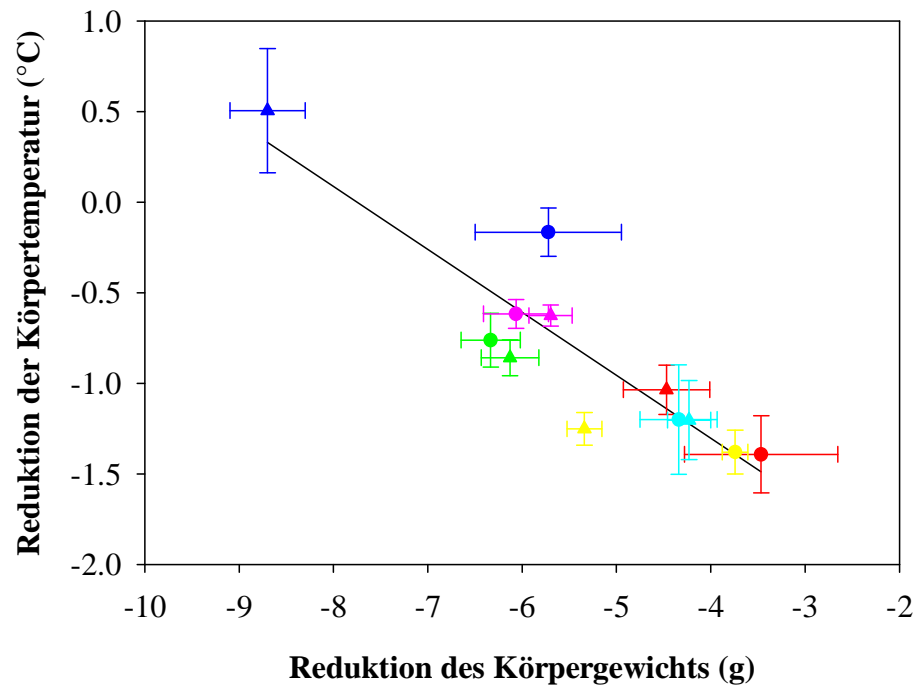
Körpertemperaturabsenkung der Männchen (a) und Weibchen (b). Mit gleichen Buchstaben markierte Linien wiesen untereinander einen signifikanten Unterschied auf (*kursiv*: $p < 0.05$, **fett**: $p < 0.01$, **unterstrichen**: $p < 0.001$). c) Vergleich der Körpertemperaturreduktion männlicher und weiblicher Tiere (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Alle Werte wurden als MW + SEM dargestellt.

129/SvJ: m: n = 12, w: n = 10; AKR/J: m: n = 15, w: n = 6; C57BL/6J: m: n = 71, w: n = 43; Balb/cJ: m: n = 13, w: n = 11; C3HeB/FeJ: m: n = 67, w: n = 32; SWR/J: m: n = 21, w: n = 19.

Linien, die im Verlauf des Futterreduktionsexperiments eine niedrigere Reduktion des Körpergewichts aufwiesen, senkten ihre Körpertemperatur vergleichsweise stark ab. (129/SvJ, C57BL/6J und SWR/J), während der hohe Körpergewichtsverlust der anderen drei Linien (AKR/J, Balb/cJ und C3HeB/FeJ) mit einem vergleichsweise niedrigen Absinken der Körpertemperatur einherging.

Die Korrelation zwischen der Reduktion der Körpertemperatur und der Reduktion des Körpergewichts wurde in Abbildung 22 dargestellt.

**Abb. 22:****Zusammenhang zwischen der Reduktion des Körpergewichts und der Körpertemperatur.**

Der Zusammenhang zwischen Körpergewichtsreduktion und dem Absinken der Körpertemperatur wurde am Beispiel der Inzuchtlinien gezeigt. $T_{b,red} = -2.692 - 0.348 \cdot BM_{red}$, $r^2 = 0.80$, $p < 0.001$, $n = 12$.

Männchen wurden als Dreiecke, Weibchen als Kreise dargestellt. MW \pm SEM.

129/SvJ (▲,●), AKR/J (▲,●), C57BL/6J (▲,●), Balb/cJ (▲,●), C3HeB/FeJ (▲,●), SWR/J (▲,●).

Tab. 4:**Übersicht aller unter Futterreduktion erhobenen Werte der Inzuchtlinien**Alle Werte wurden als MW \pm SEM dargestellt.

Futterreduktion (40%)	129/SvJ		AKR/J		C57BL/6J		Balb/cJ		C3HeB/FeJ		SWR/J	
	♂ n=12	♀ n=10	♂ n=15	♀ n=6	♂ n=71	♀ n=43	♂ n=13	♀ n=11	♂ n=67	♀ n=32	♂ n=21	♀ n=19
Körpergewicht (g)	26.6 ± 0.5	22.4 ± 0.8	33.4 ± 0.7	30.4 ± 1.1	24.2 ± 0.3	19.2 ± 0.3	25.6 ± 1.04	20.3 ± 1.09	33.6 ± 0.5	30.2 ± 0.7	24.9 ± 0.5	19.5 ± 0.5
Körpergewichtsreduktion (g)	-4.5 ± 0.5	-3.5 ± 0.8	-6.1 ± 0.3	-6.3 ± 0.8	-5.3 ± 0.2	-3.7 ± 0.1	-8.7 ± 0.4	-5.7 ± 0.8	-5.7 ± 0.2	-6.1 ± 0.3	-4.2 ± 0.2	-4.3 ± 0.4
Rektale Körpertemperatur (°C)	35.8 ± 0.1	35.6 ± 0.2	36.0 ± 0.1	36.5 ± 0.1	35.6 ± 0.1	35.7 ± 0.1	36.6 ± 0.2	36.8 ± 0.3	35.7 ± 0.1	36.2 ± 0.1	35.9 ± 0.3	36.1 ± 0.3
Körpertemperaturabsenkung (°C)	-1.0 ± 0.1	-1.4 ± 0.2	-0.9 ± 0.1	-0.8 ± 0.1	-1.2 ± 0.1	-1.4 ± 0.1	+0.5 ± 0.3	-0.2 ± 0.1	-0.6 ± 0.1	-0.6 ± 0.1	-1.2 ± 0.2	-1.2 ± 0.3
Futterraufnahme (g d⁻¹)	2.1 ± 0.1	2.1 ± 0.2	2.2 ± 0.1	1.9 ± 0.1	2.0 ± 0.0	2.0 ± 0.0	2.5 ± 0.1	1.9 ± 0.1	2.5 ± 0.0	2.5 ± 0.0	2.4 ± 0.1	2.0 ± 0.1
Energieaufnahme (kJ d⁻¹)	39.82 ± 2.89	38.36 ± 4.74	39.86 ± 1.60	34.80 ± 2.68	37.92 ± 0.55	37.10 ± 0.48	46.83 ± 1.82	36.18 ± 1.59	46.21 ± 0.56	46.57 ± 0.76	44.61 ± 1.64	36.15 ± 1.15
Kotproduktion (g d⁻¹)	0.42 ± 0.02	0.37 ± 0.04	0.44 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.36 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.40 ± 0.01	0.41 ± 0.03	0.52 ± 0.01	0.57 ± 0.01	0.49 ± 0.03	0.41 ± 0.03
Energiegehalt des Kots (kJ g⁻¹)	15.48 ± 0.15	15.24 ± 0.19	16.24 ± 0.13	16.15 ± 0.14	15.68 ± 0.06	15.88 ± 0.09	15.84 ± 0.09	15.73 ± 0.09	16.21 ± 0.05	16.23 ± 0.08	15.79 ± 0.10	15.49 ± 0.16
Metabolisierte Energie (kJ d⁻¹)	32.68 ± 2.52	32.09 ± 4.07	32.02 ± 1.38	28.03 ± 2.52	31.29 ± 0.47	30.84 ± 0.41	39.70 ± 1.70	29.18 ± 1.63	36.32 ± 0.39	36.39 ± 0.79	35.05 ± 1.26	29.72 ± 1.07
Assimilationskoeffizient (%)	81.8 ± 0.5	83.3 ± 0.5	80.2 ± 0.5	80.1 ± 1.2	84.0 ± 0.3	83.6 ± 0.5	84.6 ± 0.5	80.3 ± 1.7	80.3 ± 0.3	79.3 ± 0.5	80.7 ± 0.8	81.3 ± 0.8

3.2 Der Primärscreen des metabolischen Labors als Werkzeug zur Detektion metabolischer Phänotypen

3.2.1 Das Körpergewicht

In 37 von 80 MML (46 %) konnte unter *ad libitum* Bedingungen ein signifikanter genotypspezifischer Unterschied im Körpergewicht festgestellt werden (Abb. 23 a, b). Bei 31 Linien trat dieser Unterschied bei beiden Geschlechtern auf, wohingegen er bei vier Linien (A008A01, Dea3, HDAC2, SMA005) ausschließlich bei den Männchen und bei zwei Linien (ABE2, GAMT167) ausschließlich bei den Weibchen zu finden war.

Bei sieben MML war das Körpergewicht der Mutanten signifikant höher als das der Kontrollen. Sie stehen 30 MML mit einem signifikant niedrigeren Körpergewicht der Mutanten gegenüber (Übersicht vergl. Tab. 5, Kapitel 3.2.3). Innerhalb der 37 auffälligen Linien beträgt der prozentuale Anteil der übergewichtigen Mutantenlinien 19 % gegenüber 81 % untergewichtiger Mutantenlinien.

In der Kategorie der übergewichtigen Mutantenlinien fielen wie die Linie HWE007 die größte Körpergewichtsdifferenz zwischen Mutanten und Kontrollen auf (ΔKG : m: 10.2 ± 0.3 g, w: 8.5 ± 0.5 g; beide $p < 0.001$). Diese Linie durchlief jedoch ausschließlich den *Primärscreen* des metabolischen Labors. Weiterhin waren Körpergewicht und Erscheinungsbild die Auswahlkriterien zur Unterscheidung zwischen Mutanten und Kontrollen (siehe 2.1.1). Bei den MML, die den kompletten *Primärscreen* der GMC durchliefen, fielen anhand des Körpergewichts besonders die Linien Ali22 (ΔKG : m: 4.5 ± 0.7 g, w: 6.0 ± 0.5 g; beide $p < 0.001$), ESCP (ΔKG : m: 4.9 ± 1.9 g, w: 4.0 ± 1.8 g; beide $p < 0.01$) und Nbea (ΔKG : m: 3.5 ± 1.2 g, w: 3.5 ± 1.3 g; beide $p < 0.01$) auf. In der Gruppe der untergewichtigen Linien war die Gewichts-differenz bei den Linien ABE17 (ΔKG : m: -11.4 ± 0.5 g, w: -15.4 ± 0.4 g; beide $p < 0.001$), AGA002 (ΔKG : m: -10.8 ± 0.6 g, w: -13.2 ± 0.5 g; beide $p < 0.001$), KTA041 (ΔKG : m: -13.8 ± 0.8 g, w: -12.0 ± 1.2 g; beide $p < 0.001$), ALI18 (ΔKG : m: -8.9 ± 0.5 g, w: -10.9 ± 1.2 g; beide $p < 0.001$) und MFP2 (ΔKG : m: -6.8 ± 0.9 g, w: -10.1 ± 1.1 g; beide $p < 0.001$) am größten.

Seite 59 und 60

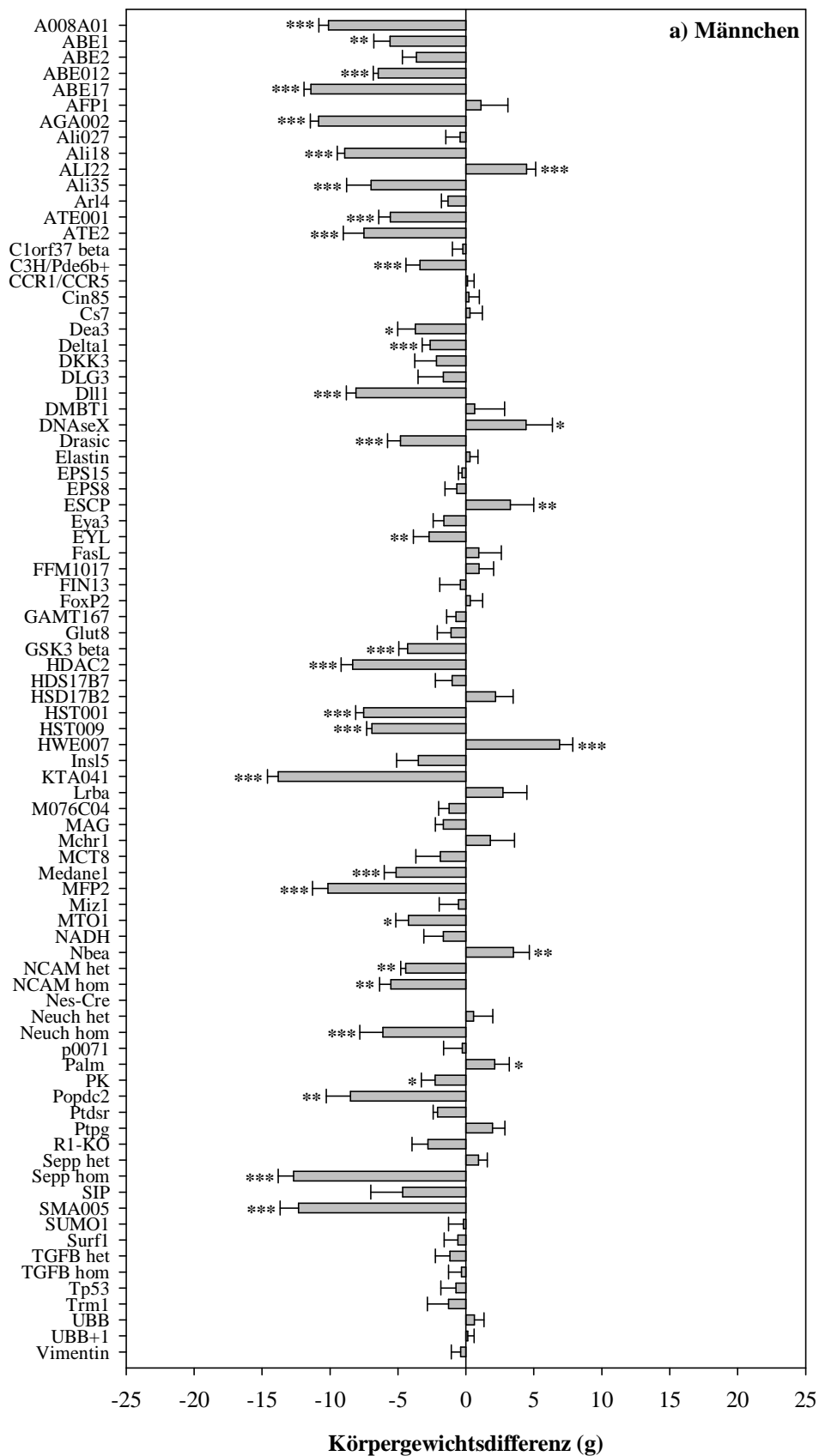
Abb. 23:

Genotypspezifische Unterschiede innerhalb der Mutantenlinien: Das Körpergewicht

Differenz zwischen Mutanten und Kontrollen. Waren die Mutanten leichter als die Kontrolltiere wurde die Differenz negativ dargestellt, waren die Mutanten schwerer als die Kontrolltiere wurde die Differenz positiv dargestellt. Die Aufzählung der MML erfolgte in alphabetischer Reihenfolge, um den Vergleich der Linien zwischen den Abbildungen zu erleichtern. Da bei vier MML hetero- und homozygote Mutanten mit den Kontrollen verglichen wurden, beträgt die Gesamtzahl der MML in dieser Abbildung 84.

(a) Männchen, (b) Weibchen.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.



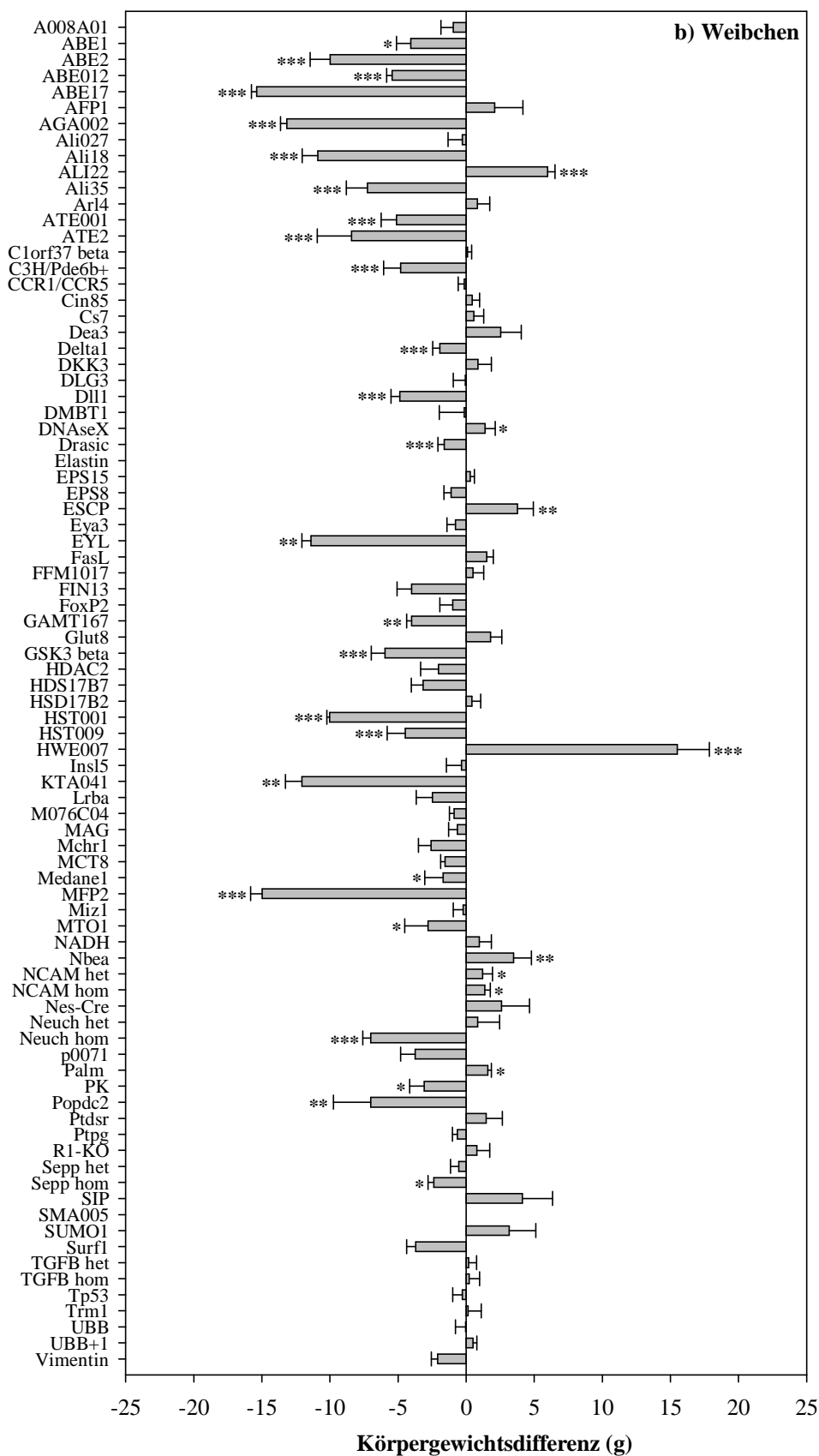


Abbildung 24 veranschaulicht die Verteilung der Gewichtsphänotypen zwischen Männchen und Weibchen. Die unauffälligen MML liegen auf dem Schnittpunkt der drei eingezeichneten Geraden. Bei MML im Quadranten I waren die weiblichen Mutanten schwerer und die männlichen leichter als die Kontrollen. Im Quadranten II befinden sich MML, deren männliche und weibliche Mutanten schwerer als die Kontrollen waren, hier fällt insbesondere die MML HWE007 auf. Quadrant III zeigt MML, deren männliche Mutanten schwerer und deren weibliche leichter waren als die jeweiligen Kontrollen, während Quadrant IV die MML beinhaltet, deren Mutanten beider Geschlechter leichter waren als die Kontrollen. MML, die auf der Winkelhalbierenden liegen, zeigten in ihrer Gewichtsdivergenz zwischen Mutanten und Kontrollen keinen Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Mäusen.

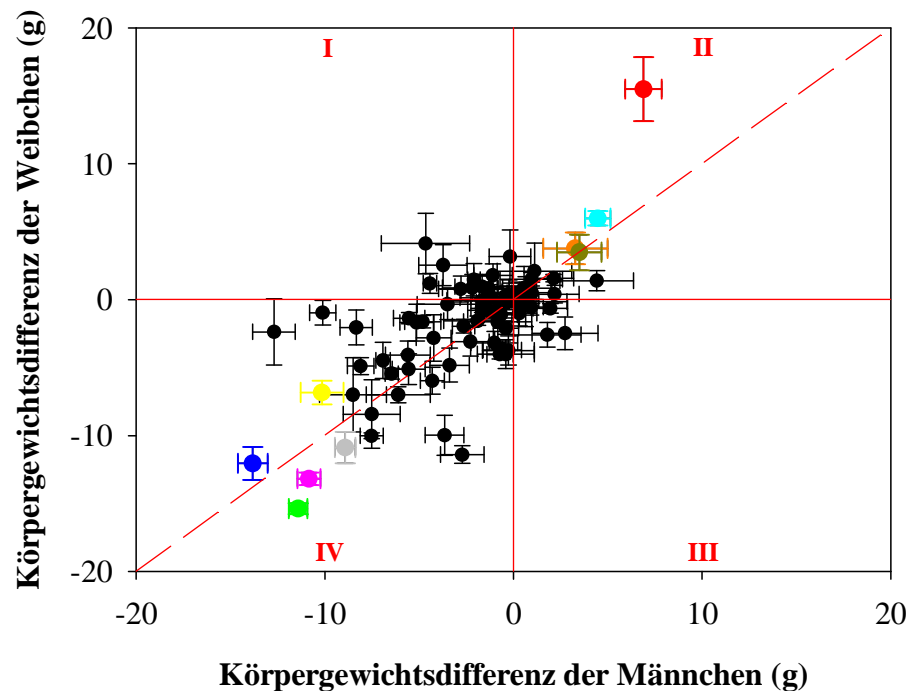


Abb. 24:

Verteilungsmuster der Körpergewichtsdifferenz

Das Koordinatensystem wurde mittels der Geraden, die die x- bzw. y-Achse im Nullpunkt schneiden in 4 Quadranten unterteilt. Zusätzlich wurde die Winkelhalbierende eingezeichnet (Beschreibung siehe Text). Dargestellt sind 78 MML als $MW \pm SEM$. $n = 4-12$. Die Linien mit dem größten signifikanten Gewichtsunterschied beider Geschlechter wurden farblich hervorgehoben. HWE007 (●), Ali22(●), ESCP(●), Nbea(●), ABE17(●), AGA002(●), KTA041(●), ALI18(●), MFP2(●).

3.2.2 Der Parameter metabolisierte Energie

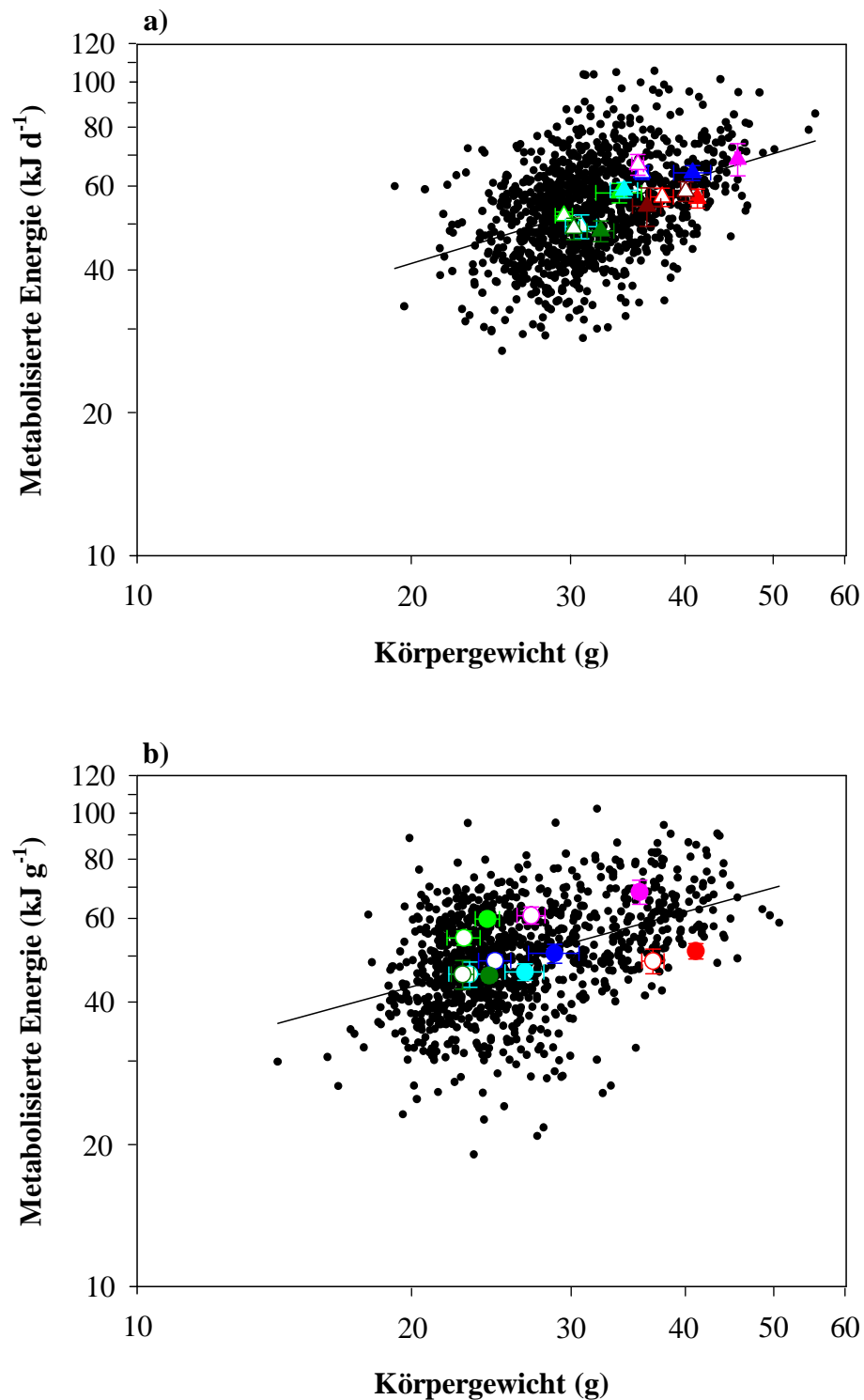
Zunächst wurden die Absolutwerte der Futteraufnahme der Mutanten mit derjenigen der entsprechenden Kontrollen verglichen. Bei 15 der gemessenen 80 Linien (19 %) wurden signifikante Unterschiede in der Futteraufnahme festgestellt. Bei acht der 15 Linien konnte der Unterschied in beiden Geschlechtern nachgewiesen werden (AGA002, ALI18, ALI35, C3H/Pde6b⁺, Dll1, Drasic, KTA041, Nbea). Bei vier Linien (Elastin, MFP2, SEPP, SMA005) war er nur in den männlichen Tieren und bei drei Linien (ABE17, CIN85, KTA041) nur in den weiblichen Tieren feststellbar.

Da bei nur zwei der 15 MML (CIN85 und Elastin) kein Körpergewichtsunterschied zwischen Mutanten und Kontrollen bestand, konnte nicht ausgeschlossen werden, dass die unterschiedliche Futteraufnahme allein in der Körpergewichtsdifferenz begründet lag. Aus diesem Grund wurde die Futteraufnahme aller 80 MML unter Normalisierung des Körpergewichts statistisch verglichen. Hierbei zeigten sich bei 11 Linien (14 %) statistische Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen. Bei 9 Linien unterschied sich die körpergewichtsbezogene metabolisierte Energie zwischen Mutanten und Kontrollen beider Geschlechter (ALI22, CIN85, Delta1, DNaseX, FoxP2, HDAC2, R1-KO, SePP_het, UBB+1). Bei zwei MML wurden ausschließlich die Männchen analysiert (Elastin, SMA005).

Aus der Differenz der Energieaufnahme über das Futter und dem Energieverlust über Kot und Urin wurde die metabolisierte Energie berechnet (vergl. Abschnitt 3.1.3).

Der Vergleich der absoluten metabolisierten Energie der MML zeigte, dass sich die Mutanten von 16 MML signifikant von den Kontrollen unterschieden. Bei 13 MML war die Differenz zwischen Mutanten und Kontrollen in beiden Geschlechtern festzustellen (ABE17, AGA002, ALI18, ALI35, C3H/Pde6b⁺, CIN85, DNaseX, Drasic, EYL, GAMT, KTA041, SePP, Vimentin), bei zwei Linien nur bei den Männchen (Elastin, SMA005) und bei der MML DLL1 nur bei den Weibchen. Insgesamt metabolisierten die Mutanten von 14 MML signifikant weniger Energie als die Kontrollen (ABE17, AGA002, ALI18, ALI35, C3H/Pde6b⁺, DLL1, Drasic, Elastin, EYL, GAMT, KTA041, SePP, SMA005, Vimentin), während die Kontrollen zweier MML einen größeren Energiebetrag metabolisierten als die Kontrollen (CIN85, DNaseX).

Die metabolisierte Energie war positiv mit dem Körpergewicht korreliert (Abb. 25 a, b).

**Abb. 25****Die metabolisierte Energie in Bezug auf das Körpergewicht**

a) Männchen ($\log E_{\text{met}} = 0.857 + 0.584 \cdot \log \text{BM}$, $r^2 = 0.16$, $p < 0.001$, $n = 1137$).

b) Weibchen ($\log E_{\text{met}} = 0.948 + 0.526 \cdot \log \text{BM}$, $r^2 = 0.19$, $p < 0.001$, $n = 1108$).

Die übergewichtigen Mauslinien ALI22 (●), DNaseX (●), ESCP (●), HWE007 (●), Nbea (●), Dea3 (●) und Palm(●) wurden eingezeichnet. Mutanten wurden durch ausgefüllte Symbole dargestellt, Kontrollen durch unausgefüllte. MW \pm SEM, $n = 6 - 12$.

Mit Ausnahme der MML Elastin, CIN85 und Vimentin zeigten 13 der 16 auffälligen MML einen signifikanten Unterschied im Körpergewicht. Um die Mutanten mit den Kontrollen unbeeinflusst von ihrem Körpergewichtsunterschied vergleichen zu können, wurde ein erneuter statistischer Vergleich der auf das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie durchgeführt. Insgesamt wurde bei 9 MML signifikante Unterschiede in der normalisierten metabolisierten Energie zwischen Mutanten und Kontrollen festgestellt (Übersicht vergl. Tab. 5, Kapitel 3.2.3). Bei sieben MML wurden beide Geschlechter auffällig (ALI22, Delta1, DNaseX, FoxP2, HDAC2, SePP_het, UBB+1) während bei zwei Linien nur männliche Tiere gemessen wurden (Elastin, SMA005).

Die Effizienz, mit der die Mäuse Energie aus dem Futter für sich nutzbar machten, wurde durch den Assimilationskoeffizienten als prozentualer Anteil der metabolisierten Energie von der gesamt aufgenommenen Energiemenge ausgedrückt.

Insgesamt wurde in 13 der 80 Linien (16 %) ein Unterschied in der Assimilationseffizienz von Mutanten und Kontrollen gefunden. In 8 Linien wurden beide Geschlechter auffällig, bei einer Linie (Neuch) zeigte sich der Unterschied nur bei den Männchen und bei 4 Linien (ABE2, ALI18, Eya3, MCT8) ausschließlich bei den Weibchen.

Zehn Linien (ABE2, ABE12, ABE17, Ali18, Eya3, Miz1, NCAM, Neuch, Ptdsr, UBB) wiesen einen signifikant höheren Assimilationskoeffizienten der Mutanten auf, während bei drei Linien die Kontrollen das Futter effizienter verwerteten (Drasic, MAG, MCT8). Ein genereller Unterschied in der Assimilationseffizienz zwischen den Geschlechtern wurde nicht gefunden.

3.2.3 Der Parameter Körpertemperatur

Unter *ad libitum* Bedingungen konnte in 21 der 80 Mutantenlinien (26 %) ein signifikanter genotypspezifischer Unterschied in der Körpertemperatur festgestellt werden (Abb. 26 a, b). Bei 17 Linien trat dieser Unterschied in beiden Geschlechtern auf, während er bei zwei Linien ausschließlich bei den Männchen (ABE2, SMA005) und bei zwei Linien ausschließlich bei den Weibchen (EYL, Sip) zu verzeichnen war.

Innerhalb der 21 auffälligen Linien war die rektale Körpertemperatur der Mutanten bei fünf Linien (24 %) signifikant niedriger und bei 16 Linien (76 %) signifikant höher als in den jeweiligen Kontrollen (Übersicht vergl. Tab. 5, Kapitel 3.2.3).

In der Kategorie der MML, deren Mutanten eine höhere Körpertemperatur aufwiesen als die Kontrollen, traten die Linien EYL (m: $\Delta T_{b,rec}$: 1.0 ± 0.3 °C, w: $\Delta T_{b,rec}$: 0.6 ± 0.2 °C, beide $p < 0.001$), ABE2 (m: $\Delta T_{b,rec}$: 0.3 ± 0.1 °C, $p < 0.01$), Palm (m: $\Delta T_{b,rec}$: 0.5 ± 0.1 °C, w: $\Delta T_{b,rec}$: 0.3 ± 0.1 °C, beide $p < 0.001$) und SMA005 (m: $\Delta T_{b,rec}$: 0.5 ± 0.1 °C, $p < 0.001$) besonders hervor. Bei den Linien mit einer niedrigen Körpertemperatur der Mutanten zeigten ABE17 (m: $\Delta T_{b,rec}$: -0.6 ± 0.1 °C, w: $\Delta T_{b,rec}$: -0.5 ± 0.1 °C, beide $p < 0.001$), HST001 (m: $\Delta T_{b,rec}$: -0.7 ± 0.1 °C, w: $\Delta T_{b,rec}$: -0.9 ± 0.2 °C, beide $p < 0.001$), MFP2 (m: $\Delta T_{b,rec}$: -0.8 ± 0.3 °C, w: $\Delta T_{b,rec}$: -1.0 ± 0.5 °C, beide $p < 0.001$) und Neuch_het (m: $\Delta T_{b,rec}$: -0.4 ± 0.0 °C, w: $\Delta T_{b,rec}$: -0.8 ± 0.2 °C, beide $p < 0.001$) die größte Differenz.

Seite 66 und 67

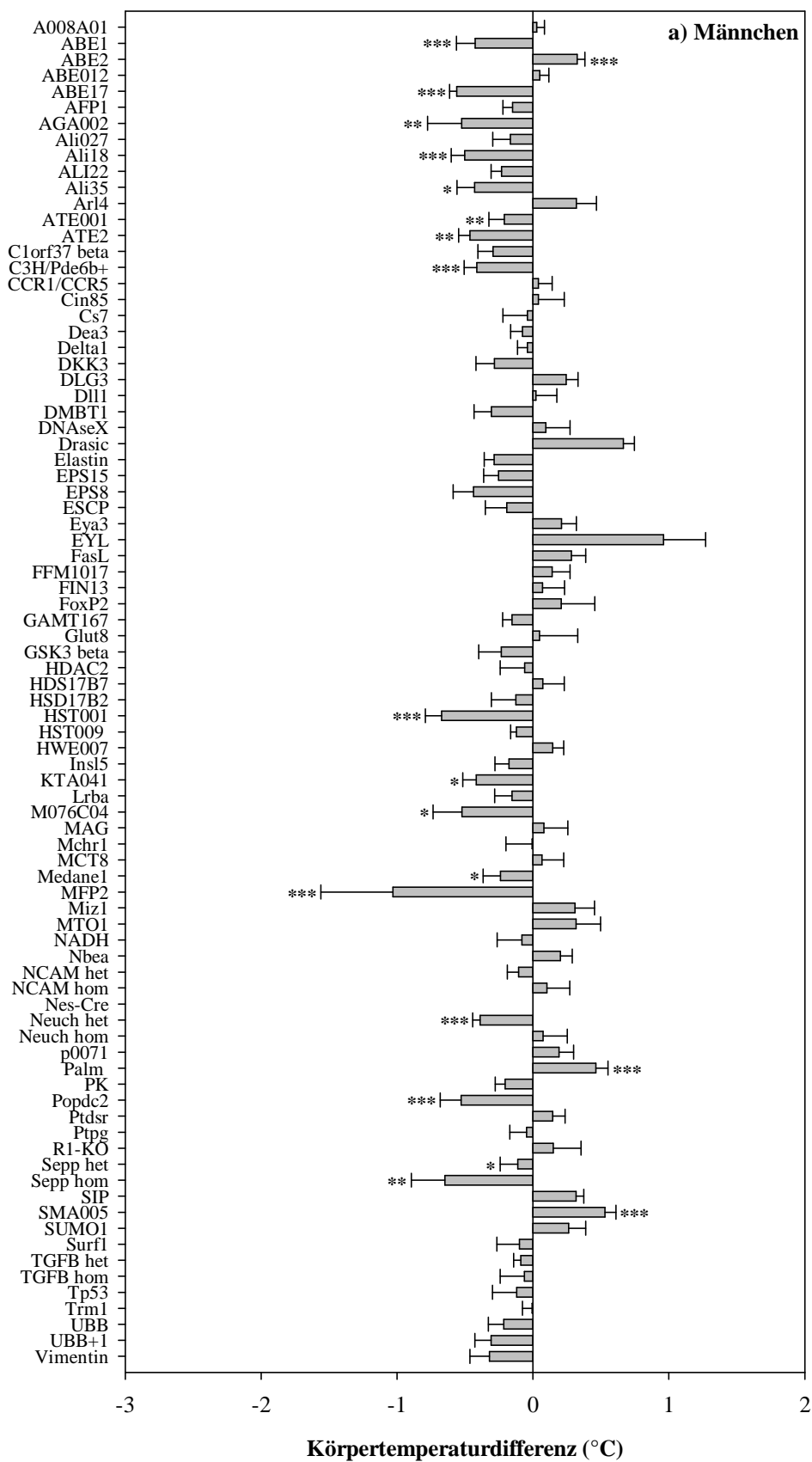
Abb. 26:

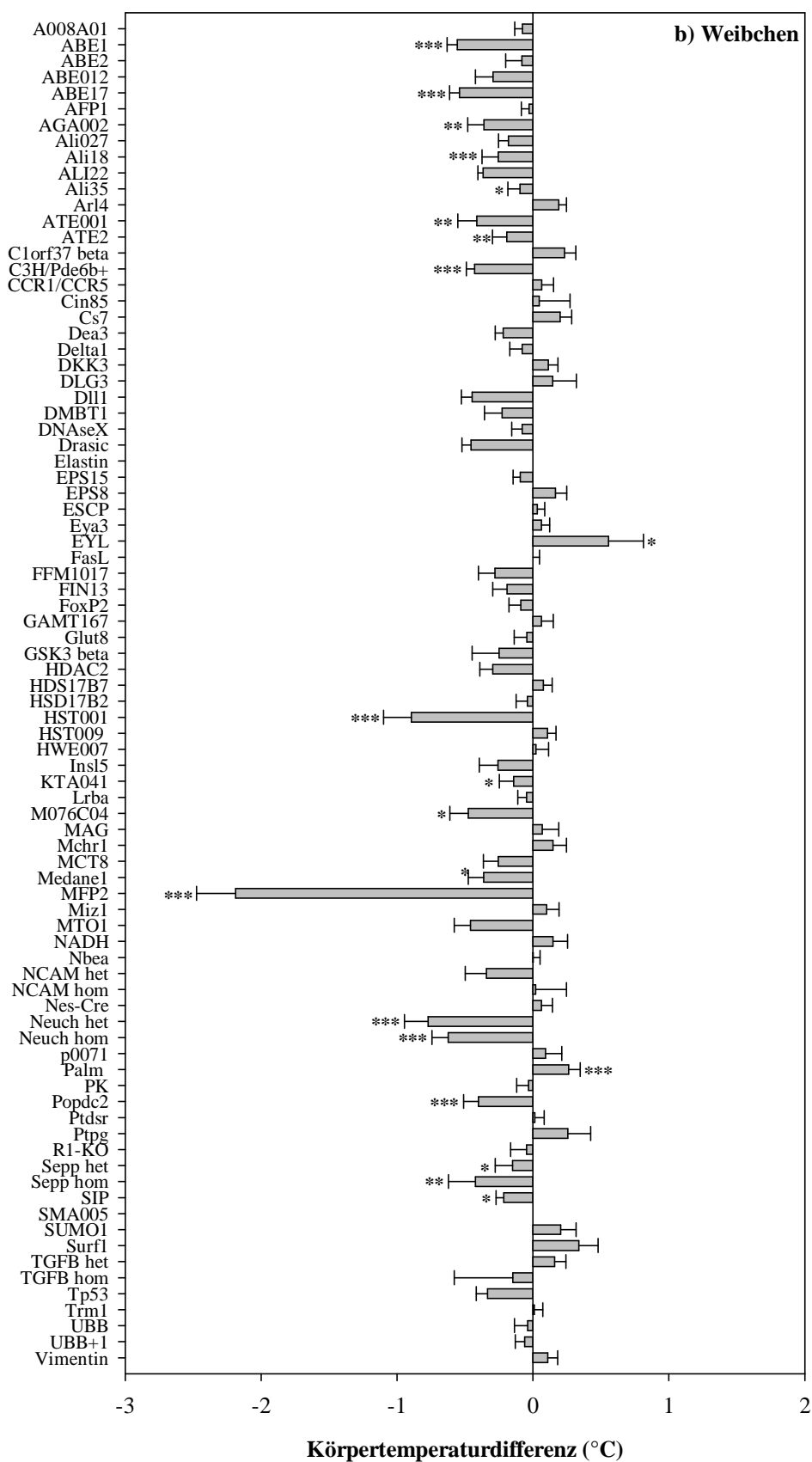
Genotypspezifische Unterschiede innerhalb der Mutantenlinien: Die Körpertemperatur

Differenz zwischen Mutanten und Kontrollen. War die Körpertemperatur der Mutanten niedriger als die der Kontrolltiere wurde die Differenz negativ dargestellt, war die Körpertemperatur der Mutanten höher als die der Kontrolltiere wurde die Differenz positiv dargestellt. Die Aufzählung der MML erfolgte in alphabetischer Reihenfolge, um den Vergleich der Linien zwischen den Abbildungen zu erleichtern. Da bei vier MML hetero- und homozygote Mutanten mit den Kontrollen verglichen wurden, beträgt die Gesamtzahl der MML in dieser Abbildung 84.

(a) Männchen, (b) Weibchen.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$





In Abbildung 27 wird die Verteilung der MML mit signifikanten Unterschieden in der rektalen Körpertemperatur dargestellt. Die unauffälligen MML liegen auf dem Schnittpunkt der drei eingezeichneten Geraden. Bei MML im Quadranten I war die Körpertemperaturdifferenz der Mutanten zu den Kontrollen bei den Weibchen größer und bei den Männchen kleiner, während die Mutanten der MML im Quadranten II bei beiden Geschlechtern eine höhere Körpertemperatur aufwiesen. In diesem Quadranten fällt insbesondere die MML EYL auf. Quadrant III zeigt MML, deren männliche Mutanten eine höhere und deren weiblichen Mutanten eine niedrigere Körpertemperatur aufwiesen als die Kontrollen. Quadrant IV beinhaltet MML deren Mutanten beider Geschlechter niedrigere Werte aufweisen als die Kontrollen. Auf der Winkelhalbierenden liegen die MML, die in ihrer Differenz zwischen Mutanten und Kontrollen keinen Unterschied zwischen den Geschlechtern zeigten.

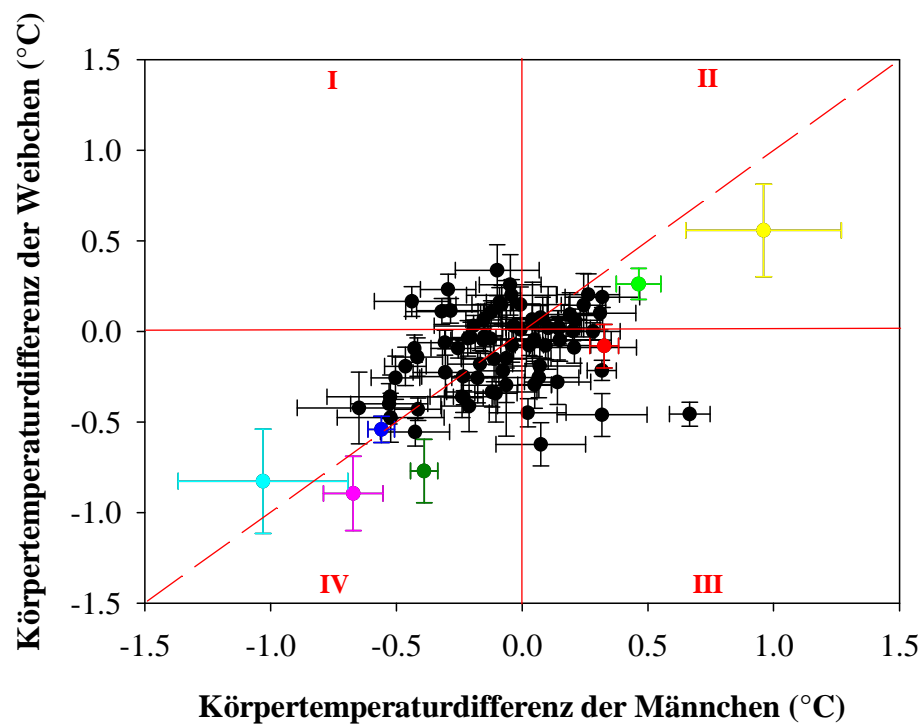


Abb. 27:

Verteilungsmuster der Körpertemperaturdifferenz der MML

Das Koordinatensystem wurde mittels der Geraden, die die x- bzw. y-Achse im Nullpunkt schneiden in 4 Quadranten unterteilt. Zusätzlich wurde die Winkelhalbierende eingezeichnet (Beschreibung siehe Text). $N = 78$, $n = 4 - 8$. $MW \pm SEM$. Die zuvor im Text erwähnten MML mit dem größten signifikanten Körpertemperaturunterschied beider Geschlechter wurden farblich hervorgehoben. EYL (●), ABE2 (●), Palm (●), ABE17 (●), HST001 (●), MFP2 (●), Neuch (●).

3.2.4 Metabolischen Phänotypen unter *ad libitum* Bedingungen

Unter *ad libitum* Bedingungen wurden bei 42 (52 %) der gemessenen 80 MML in den Parametern Körpergewicht, Körpertemperatur und metabolisierte Energie signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen festgestellt. Da sich bei vier MML (ABE2, EYL, HDAC2) die Kombination der signifikant veränderten Parameter von Männchen und Weibchen unterschied, betrug die Summe 45. Bei 16 der 42 auffälligen Linien (35 %) wurden ausschließlich Veränderungen im Körpergewicht deutlich, bei drei Linien (7 %) ausschließlich in der Körpertemperatur und bei vier Linien (9 %) lag der alleinige Unterschied in der metabolisierten Energie. 16 Linien (35 %) zeigten eine Kombination aus signifikanten Veränderungen in Körpergewicht und Körpertemperatur und vier Linien (9 %) wiesen eine Kombination aus verändertem Körpergewicht und veränderter metabolisierter Energie auf. Bei nur zwei MML (4 %) waren alle drei Parameter signifikant verändert (SePP und SMA005). Die Kombination aus veränderter Körpertemperatur und veränderter Energieassimilation konnte in keiner der MML beobachtet werden (siehe Abb. 28, Tab. 5).

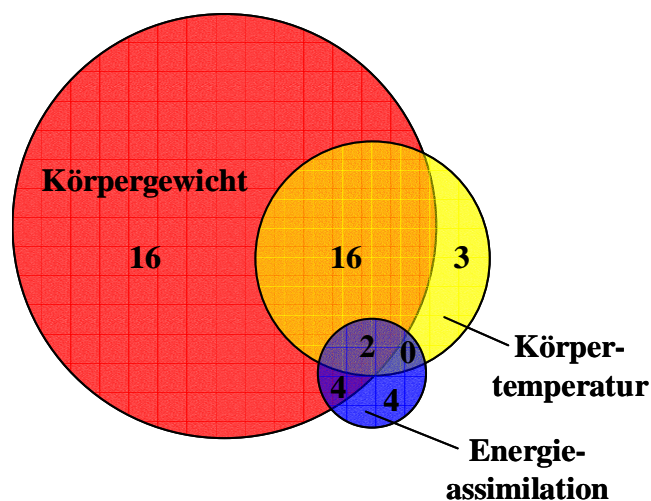


Abb. 28:

Venn-Diagramm der Absolutzahlen der unter *ad libitum* Bedingungen signifikant veränderten Parameter

Die Männchen und Weibchen von drei MML (siehe Text) unterschieden sich in der Kombinationen der veränderten Parameter voneinander. Aus diesem Grund ist die Summe der Kombinationen 45. Die Summe der Zahlen innerhalb eines Kreises stellt die Gesamthäufigkeit dar, mit der ein einzelner Parameter signifikant verändert auftrat. Schnittmengen stellen eine Kombination der signifikant veränderten Parameter dar.

Tab. 5:**Einteilung der Mausmutantenlinien nach den signifikant veränderten Parametern**

Dargestellt sind alle MML, die signifikante Veränderungen in mindestens einem metabolischen Parameter aufwiesen. MML, bei denen nur die männlichen Tiere gemessen wurden, wurden **fett** markiert. MML, bei denen die Geschlechter anhand von unterschiedlichen Parametern auffällig wurden, wurden blau bzw. rot eingefärbt.

Das Verhältnis der Mutanten zu den Kontrollen wurde durch Pfeile (BM: grün T_{b,rec}: rot, E_{met}: gelb) gekennzeichnet.

Phänotypen	Beide Geschlechter	Nur in Männchen	Nur in Weibchen
Körpergewicht	ABE12↓, Dll1↓, Drasic↓, ESCP↑, GSK3β↓, HST009↓, HWE007↑, MTO1↓, Nbea↑, NCAM↓, PK↓	A008A01↓, Dea3↑, EYL↓	ABE2↓, GAMT↓
Körpertemperatur	M076C04↓	ABE2↑	SIP↓
Metabolisierte Energie	FoxP2↑, UBB+1↓	Elastin↓	HDAC2↑
Körpergewicht & Körpertemperatur	ABE1↓↓, ABE17↓↓, AGA002↓↓, ALI18↓↓, ALI35↓↓, ATE001↓↓, ATE2↓↓, C3H/Pde6b ⁺ ↓↓, HST001↓↓, KTA041↓↓, Medane1↓↓, MFP2↓↓, Neuch↓↓, Palm↑↑, Popdc2↓↓		EYL↓↑
Körpergewicht & metabolisierte Energie	ALI22↑↓, Delta1↑↓, DNaseX↑↑	HDAC2↓↑	
Körpergewicht, Körpertemperatur & metabolisierte Energie	SePP↓↓↓	SMA005↓↑↑	

3.2.5 Metabolische Phänotypen unter Futterreduktion

Bei 64 der 80 MML wurden Futterreduktionsexperimente durchgeführt. Bei zwei Linien (CIN85 und Fin13) wurden beide Futterreduktionsexperimente an unterschiedlichen Gruppen angewandt, so dass insgesamt 35 Linien einer chronischen (= 40 %igen für sieben Tage) und 31 Linien einer akuten (= 100 %igen für zwei Tage) Futterreduktion unterzogen wurden.

Für die Auswertung der Ergebnisse der Futterreduktionsexperimente wurde schrittweise vorgegangen.

Zunächst wurden sowohl die Körpergewichte als auch die Körpertemperaturen, die die Mäuse am letzten Tag des jeweiligen Experiments aufwiesen, zwischen Mutanten und Kontrollen verglichen (Tab. 6).

Bei 33 Linien konnten signifikante Unterschiede in diesen Parametern statistisch nachgewiesen werden. Hierbei entfielen 15 Linien auf das chronische Futterreduktionsregime und 18 Linien auf das akute Futterreduktionsregime.

Chronisches Futterreduktionsregime: Unter 40 %iger Futterreduktion zeigten 43 % der 35 Linien signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen. Innerhalb der 15 auffälligen MML wurden bei fünf Linien (33 %) Unterschiede im Körpergewicht, (ALI22, EYL, GAMT, Mediane, Neuch) bei zwei Linien (13 %) Unterschiede in der Körpertemperatur (ALI27, Popdc2) und bei acht Linien (53 %) Unterschiede in beiden Parametern gefunden (ABE17, Delta1, HST001, HWE007, MFP2, NCAM, SePP, SMA005).

Akutes Futterreduktionsregime: Insgesamt wurden bei 58 % der 31 Linien signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen gefunden. Zehn (32 %) der auffälligen Linien zeigten signifikante Unterschiede im Körpergewicht (ABE1, ATE001, ATE2, Dll1, Drasic, GSK3 β , KTA041, MTO1, Palm, PK), während bei vier Linien (16 %) Unterschiede in der Körpertemperatur (CIN85 Weibchen, EPS8 Weibchen, EYA3 Männchen, MCT8) zu erkennen waren und sich bei 13 % die Mutanten in beiden Parametern von den Kontrollen unterschieden (ABE2, C3H/Pde6b⁺, FIN13 Weibchen, HDAC2).

Tab 6: Genotypspezifische Unterschiede vor und nach der Futterreduktion

Auflistung aller MML mit genotypspezifischen Unterschieden im Körpergewicht und/oder der Körpertemperatur unter *ad libitum* Bedingungen. MML, bei denen der genotypspezifische Unterschied auch am letzten Tag des jeweiligen Futterreduktionsexperiments nachgewiesen wurde, sind schwarz dargestellt. MML, bei denen der Unterschied nicht mehr nachzuweisen war, wurden grau eingefärbt. MML, bei denen der Unterschied nur als Folge der Futterreduktion auftrat, wurden unterstrichen dargestellt. MML, bei denen nur die Männchen gemessen wurden, wurden fett markiert. Der Pfeil stellt das Verhältnis der Mutanten zu den Kontrollen dar. MML die in beiden Parametern genotypspezifische Unterschiede aufwiesen, wurden kursiv dargestellt.

	Phänotypen	Bei beiden Geschlechtern	Nur bei den Männchen	Nur bei den Weibchen
Chronische FR	Körpergewicht	<i>ABE17↓, ALI22↑, Delta1↓, DNaseX↑, ESCP↑, HST001↓, HWE007↑, Medane1↓, MFP2↓, NCAM↓, Neuch↓, Popdc2↓, SePP↓</i>	Dea3↑, EYL↓, <i>SePP↓, SMA005↓</i>	EYL↓, GAMT↓, <i>SePP↓</i>
	Körpertemperatur	<i>ABE17↓, ALI27↓, Delta1↓, HST001↓, HWE007↓, Medane1↓, MFP2↓, NCAM↓, Neuch↑, Popdc2↓, SePP↓</i>	<i>SePP↓, SMA005↑</i>	EYL↑, SIP↓
Akute FR	Körpergewicht	<i>ABE1↓, ATE001↓, ATE2↓, C3H/Pde6b⁺↓, Dll1↓, Drasic↓, GSK3β↓, HST009↓, KTA041↓, MTO1↓, Palm↑, PK↓</i>	<i>HDAC2↓</i>	ABE2↓
	Körpertemperatur	<i>ABE1↓, ATE001↓, ATE2↓, C3H/Pde6b⁺↓, HDAC2↓, KTA041↓, MCT8↓, Palm↑</i>	ABE2↑, <i>EYA3↓, FIN13↓</i>	<i>ABE2↑, CIN85↓, EPS8↑, FIN13↓</i>

Als nächstes wurde bei den Mutanten und Kontrollen der 66 MML die Reduktion des Körpergewichts (ΔBM) und das Absinken der Körpertemperatur ($\Delta T_{b,rec}$) bis zum letzten Tag der Futterreduktionsexperimente verglichen.

Bei 25 der 66 MML (38 %) konnte Abweichungen zwischen den Mutanten und Kontrollen statistisch nachgewiesen werden (vergl. Tab. XX). Im Rahmen der chronischen Futterreduktion war bei 11 MML ein Unterschied zwischen den Genotypen feststellbar, während bei der akuten Futterreduktion 14 MML einen Phänotyp zeigten (Tab. 7).

Chronisches Futterreduktionsregime: Von den 11 auffälligen MML wiesen vier MML (DNaseX, ESCP, EYL, Neuch) Unterschiede in der Körpergewichtsreduktion zwischen Mutanten und Kontrollen auf. Die Mutanten von vier MML (HWE007, MFP2, SePP, SMA005) wichen in der Körpertemperaturabsenkung von den Kontrollen ab. Eine Kombination der beiden veränderten Parameter konnte in drei MML (ABE17, HST0001, NCAM) statistisch nachgewiesen werden.

Akutes Futterreduktionsregime: Von den 14 MML, bei denen die Mutanten in der Reduktion des Körpergewichts bzw. der Absenkung der Körpertemperatur von den Kontrollen abwichen, unterschieden sich die Mutanten von sieben MML (Dil1, GSK3 β , KTA041, UBB, AFP1, Eya3, MTO1) in der Körpergewichtsreduktion von den Kontrollen, während die Körpertemperaturabsenkung bei den Mutanten von sechs MML (C3H/Pde6b⁺, CIN85, EPS8, HDAC2, MCT8, FIN13) von den Kontrollen abwich und bei nur einer MML eine Veränderung in beiden Parametern gefunden werden konnte (ABE2).

Tab. 7:

Genotypspezifische Unterschiede in Körpergewichtsreduktion und Körpertemperaturabsenkung bis zum jeweils letzten Tag der Futterreduktionsexperimente

Dargestellt sind alle MML, deren Kontrollen sich in der Körpergewichtsreduktion und/oder der Körpertemperaturabsenkung signifikant von den Kontrollen unterschieden. MML, bei denen nur die männlichen Tiere gemessen wurden, wurden **fett** markiert. Das Verhältnis der Mutanten zu den Kontrollen wurde durch Pfeile (BM: grün, T_{b,rec}: rot, E_{met}: gelb) gekennzeichnet.

	Phänotypen	Bei beiden Geschlechtern	Bei Männchen	Bei Weibchen
Chronische FR	Körpergewichtsreduktion	DNaseX \uparrow , ESCP \uparrow , EYL \uparrow , Neuch \uparrow		
	Körpertemperaturabsenkung	HWE007 \downarrow , SePP \uparrow	MFP2 \uparrow , SMA005 \uparrow	
	Körpergewichtsreduktion & Körpertemperaturabsenkung	ABE17 $\downarrow\uparrow$, HST001 $\uparrow\uparrow$, NCAM $\uparrow\uparrow$		
Akute FR	Körpergewichtreduktion	CIN85 \uparrow , Dil1 \downarrow , GSK3 β \downarrow , KTA041 \downarrow , UBB \uparrow	AFP1 \uparrow , EYA3 \uparrow	MTO1 \downarrow
	Körpertemperaturabsenkung	C3H/Pde6b ⁺ \uparrow , EPS8 \downarrow , HDAC2 \uparrow , MCT8 \uparrow	FIN13 \uparrow	
	Körpergewichtsreduktion & Körpertemperaturabsenkung	ABE2 $\downarrow\uparrow$		

Wie im folgenden Abschnitt (3.2.5) gezeigt wird, war die Körpergewichtsreduktion mit dem Körpergewicht unter *ad libitum* Bedingungen korreliert, so dass abschließend ein statistischer Vergleich der auf das Ausgangsgewicht normalisierten Körpergewichtsreduktion durchgeführt wurde. Anhand dieses Vergleichs konnte bei 10 MML ein signifikanter Unterschied in der Körpergewichtsreduktion von Mutanten und Kontrollen statistisch nachgewiesen werden.

Bei 14 MML (21 %) wurden signifikante Unterschiede im Absinken der Körpertemperatur beobachtet.

Chronisches Futterreduktionsregime: Unter 40 %iger Futterreduktion verloren die Mutanten von sechs der 35 MML (17 %) mehr Körpergewicht als ihre Kontrollen (Delta1, ESCP, EYL, GAMT, NCAM, SePP). Sieben der 35 Linien (20 %) zeigten einen signifikanten Unterschied in der Körpertemperaturreduktion (ABE17, HST001, HWE007, MFP2, NCAM, SePP, SMA005). Bei sechs der sieben Linien sank die Körpertemperatur der Mutanten stärker, während die Mutanten einer MML (HWE007) eine schwächere Körpertemperaturabsenkung aufwiesen.

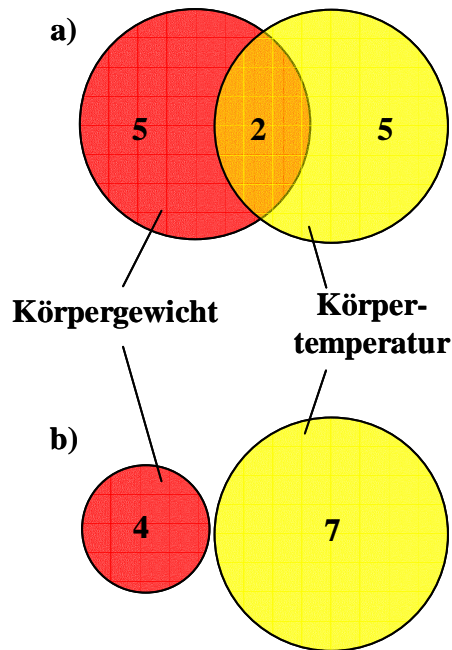
Insgesamt zeigten unter 40%iger Futterreduktion 11 der 35 MML (31 %) Differenzen zwischen Mutanten und Kontrollen. Die Mutanten von vier MML unterschieden sich ausschließlich in der Körpergewichtsabnahme und die Mutanten von fünf MML ausschließlich im Absinken der Körpertemperatur von den jeweiligen Kontrollen, während die Mutanten der MML NCAM und SePP sowohl in der Körpergewichtsreduktion als auch in der Körpertemperaturabsenkung von den Kontrollen abwichen (vergl. Tab. 8 und Abb. 29).

Akutes Futterreduktionsregime: Unter 100 %iger Futterreduktion wurden zeigten 35 % der Linien in einem der Parameter Differenzen zwischen Mutanten und Kontrolle. Hierbei unterschieden sich die Mutanten von 4 der 31 MML (13 %) in der Körpergewichtsreduktion von ihren Kontrollen. Die Mutanten der MML CIN85 und SUMO1 verloren mehr Körpergewicht und die Mutanten der MML FoxP2 und UBB verloren weniger Körpergewicht als die jeweiligen Kontrollen. Weiterhin wurden sieben der 31 MML (23 %) durch eine signifikant unterschiedliche Körpertemperaturabsenkung auffällig (ABE2, C3H/Pde6b⁺, EPS8, EYA3, FIN13, HDAC2, MCT8). Die Mutanten von sechs MML senkten ihre Körpertemperatur stärker ab als die Kontrollen, wohingegen die Körpertemperatur der Mutanten der MML EPS8 weniger stark sank. Insgesamt reagierten die Mutanten von 11 der 31 MML (35 %) anders auf die 100 %ige Futterreduktion als ihre Kontrollen. Keine der Linien zeigte signifikante Unterschiede in beiden Parametern (vergl. Tab. 8 und Abb. 29).

Tab. 8:**Genotypspezifische Unterschiede in der auf das Ausgangsgewicht normalisierten Körpergewichtsreduktion und der Körpertemperaturabsenkung bis zum jeweils letzten Tag der Futterreduktionsexperimente**

Dargestellt sind alle MML, die signifikante Veränderungen in den unter Futterreduktion erhobenen Parametern aufwiesen. MML, die unter *ad libitum* Bedingung zuvor nicht auffällig wurden, wurden orange gekennzeichnet. MML, bei denen nur die männlichen Tiere gemessen wurden, wurden **fett** markiert. MML, bei denen die Geschlechter anhand von unterschiedlichen Parametern auffällig wurden, wurden blau bzw. rot eingefärbt. Das Verhältnis der Mutanten zu den Kontrollen wurde durch Pfeile (BM: grün T_{b,rec}: rot, E_{met}: gelb) gekennzeichnet.

	Phänotyp	Beide Geschlechter	Nur in Männchen	Nur in Weibchen
Chronische FR	Körpergewichtsreduktion	Delta1↑, ESCP↑, EYL↑, GAMT↑		NCAM↑
	Körpertemperaturabsenkung	ABE17↑, HST001↑, HWE007↓	MFP2↑, SMA005↑	
	Körpergewichtsreduktion & Körpertemperaturabsenkung	SePP↑↑	NCAM↑↑,	
Akute FR	Körpergewichtsreduktion	CIN85↑, FoxP2↓, SUMO1↑, UBB↓		
	Körpertemperaturabsenkung	ABE2↑, C3H/Pde6b ⁺ ↑, EPS8↓, HDAC2↑, MCT8↑	EYA3↑	FIN13↑
	Körpergewichtsreduktion & Körpertemperaturabsenkung			

**Abb. 29:****Venn-Diagramm der Absolutzahlen der unter Futterreduktion signifikant veränderten Parameter**

Die Summe der Zahlen innerhalb eines Kreises stellt die Gesamthäufigkeit dar, mit der ein einzelner Parameter signifikant verändert auftrat. Schnittmengen stellen eine Kombination der signifikant veränderten Parameter dar.

a) Chronische Futterreduktion. Die Männchen und Weibchen einer MML (siehe Text) unterschieden sich in der Kombination der veränderten Parameter voneinander. Aus diesem Grund beträgt die Summe der Veränderten Parameter 12.

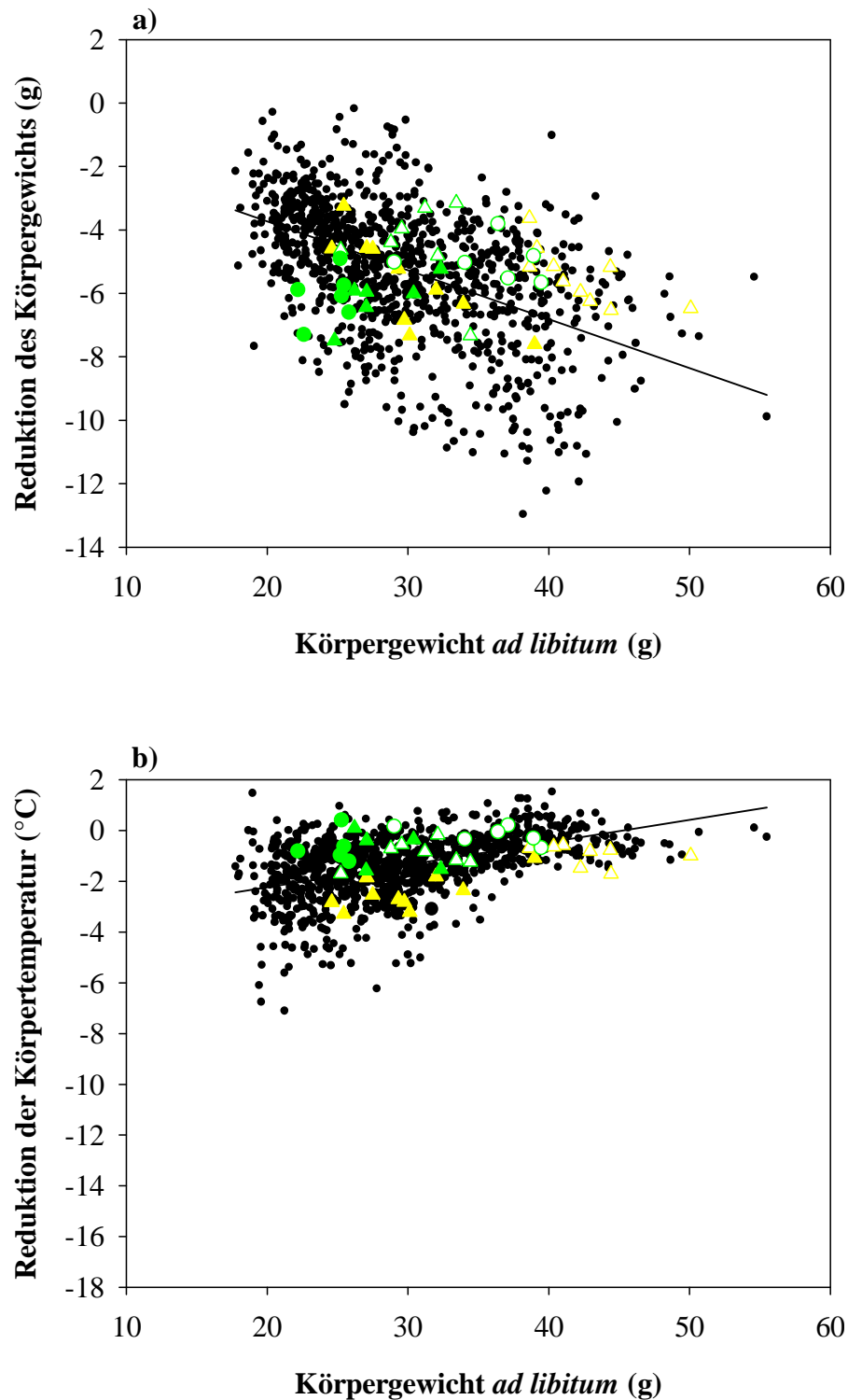
b) Akute Futterreduktion.

Innerhalb der 42 MML, bei denen unter *ad libitum* Bedingungen Veränderungen in den metabolischen Parametern festgestellt wurden, konnten in 16 Linien auch Veränderungen unter Futterreduktion festgestellt werden (chronische Futterreduktion: 11 Linien, akute Futterreduktion: 5 Linien).

Innerhalb der 38 MML bei denen unter *ad libitum* Bedingungen keine signifikanten Auffälligkeiten verzeichnet werden konnten, war auch unter chronischer Futterreduktion kein Unterschied zwischen Mutanten und Kontrollen feststellbar. Unter akuter Futterreduktion wurden bei sechs der zuvor unauffälligen Linien signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen gemessen (EPS8, EYA3, FIN13, MCT8, SUMO1, UBB).

3.2.6 Die Futterreduktionsregime im Vergleich

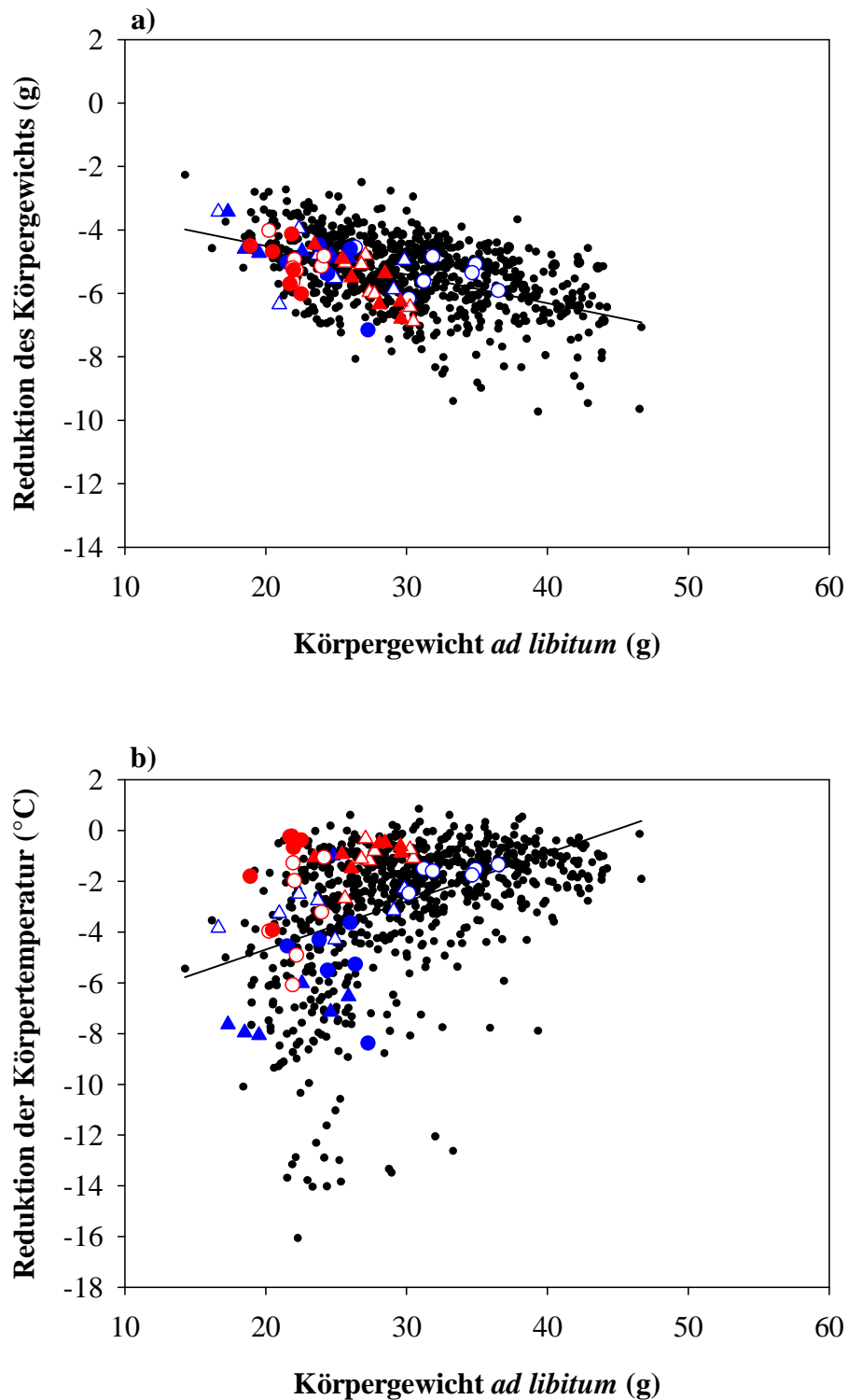
Mäuse mit einem hohen Ausgangsgewicht verloren während der Futterreduktion mehr Körpermasse als Mäuse mit niedrigem Ausgangsgewicht ($p < 0.001$, Abb. 30 a und 31a). Weiterhin bestand bei beiden Futterreduktionsregimen ein Zusammenhang zwischen dem Ausgangskörpergewicht und dem Absinken der Körpertemperatur ($p < 0.001$, Abb. 30 b und 31 b). Die Körpertemperatur leichter Mäuse sank durchschnittlich stärker als die der schweren Mäuse. Die Streuung in den Abbildungen 30 b und 31 b verdeutlicht allerdings, dass nicht alle leichten Mäuse notwendigerweise mit einem starken Absinken der Körpertemperatur auf das Energiedefizit reagierten. Zwischen akuter und chronischer Futterreduktion gab es keinen Unterschied in der Körpergewichtsabnahme ($-5.3 \pm < 0.0$ g vs. -5.2 ± 0.1 g), die Körpertemperatur der akut futterreduzierten Mäuse sank jedoch stärker ab als die der chronisch reduzierten (-2.9 ± 0.1 °C vs. $-1.3 \pm < 0.0$ °C).

**Abb. 30:****Körpergewichts- und Körpertemperaturreduktion unter chronischer Futterreduktion**

Reduktion des Körpergewichts (a) bzw. der Körpertemperatur (b) in Abhängigkeit vom Ausgangsgewicht. Die MML SMA005 (gelb) und EYL (grün) wurden vor dem Hintergrund anderer MML (schwarz) eingezeichnet (Erläuterung siehe Text). Männchen wurden als Dreiecke, Weibchen als Kreise dargestellt. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

(a) $\Delta BM_{\text{red}} = -0.643 - 0.154 \cdot BM_{\text{adlib}}$, $r^2 = 0.24$, $p < 0.001$, $n = 975$.

(b) $\Delta T_{\text{b,rec}} = -4.002 + 0.089 \cdot BM_{\text{adlib}}$, $r^2 = 0.23$, $p < 0.001$, $n = 975$.

**Abb. 31:****Körpergewichts- und Körpertemperaturreduktion unter akuter Futterreduktion**

Reduktion des Körpergewichts (a) bzw. der Körpertemperatur (b) in Abhängigkeit vom Ausgangsgewicht. Die MML EPS8 (rot) und HDAC2 (blau) wurden vor dem Hintergrund anderer MML (schwarz) eingezeichnet (Erläuterung siehe Text). Männchen wurden als Dreiecke, Weibchen als Kreise dargestellt. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

(a) $\Delta BM = -2.695 - 0.090 \cdot BM_{adlib}$, $r^2 = 0.23$, $p < 0.001$, $n = 824$.

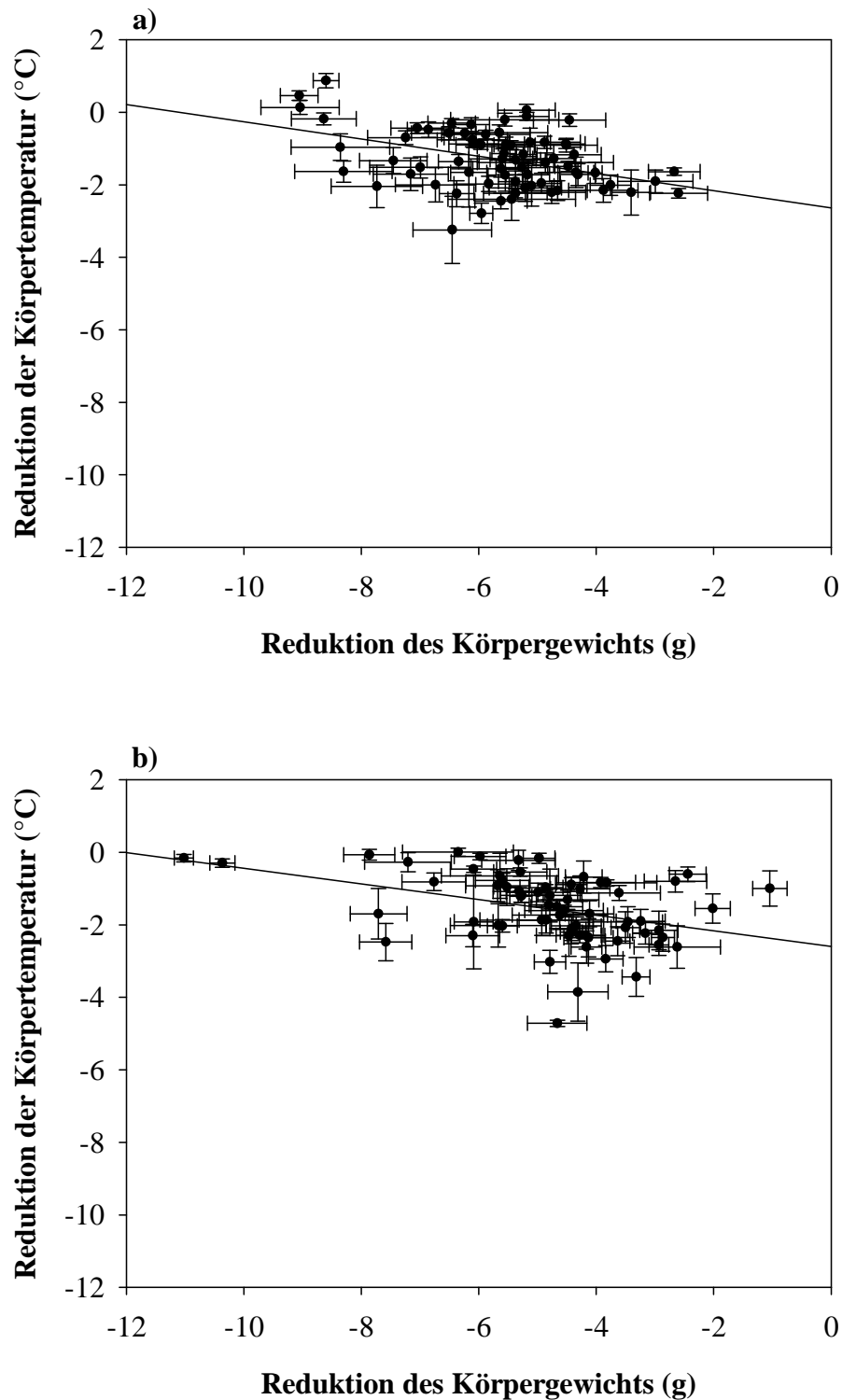
(b) $\Delta T_{b,rec} = -8.496 + 0.190 \cdot BM_{adlib}$, $r^2 = 0.18$, $p < 0.001$, $n = 824$.

In die Abbildungen 30 und 31 wurden neue Phänotypen eingezeichnet. Bei der chronischen Futterreduktion reagierten die Linien SMA005 und EYL unterschiedlich auf die Energieknappheit. Während mutante SMA005-Mäuse bei gleicher Körpergewichtsreduktion eine signifikant stärkere Absenkung der Körpertemperatur aufwiesen ($p < 0.001$), zeigten mutante EYL-Mäuse eine signifikant stärkere Absenkung des Körpergewichts bei gleicher Absenkung der Körpertemperatur ($p < 0.01$).

Bei der akuten Futterreduktion konnten phänotypische Unterschiede anhand der Linien EPS8 und HDAC2 gezeigt werden. In keiner der beiden Linien unterschieden sich die Mutanten in der Körpergewichtsreduktion von den Kontrollmäusen. Betrachtet man jedoch die Körpertemperaturabsenkung der beiden Linien, so fällt auf, dass EPS8-Mäuse ihre Körpertemperatur signifikant weniger stark absenkten als die Kontrollen ($p < 0.05$), während HDAC2-Mutanten ihre Körpertemperatur signifikant stärker absenkten als die zugehörigen Kontrolltiere ($p < 0.001$).

Bei zwei MML (CIN85, FIN13) wurde jeweils eine Gruppe der chronischen und eine Gruppe der akuten Futterreduktion unterzogen. Bei beiden Linien konnte unter chronischer Futterreduktion kein signifikant veränderter Parameter festgestellt werden. Weibliche FIN13-Mutanten zeigten jedoch am Ende der akuten Futterreduktion, verglichen mit den Kontrollen, signifikante Unterschiede in der Körpertemperaturabsenkung ($p < 0.05$).

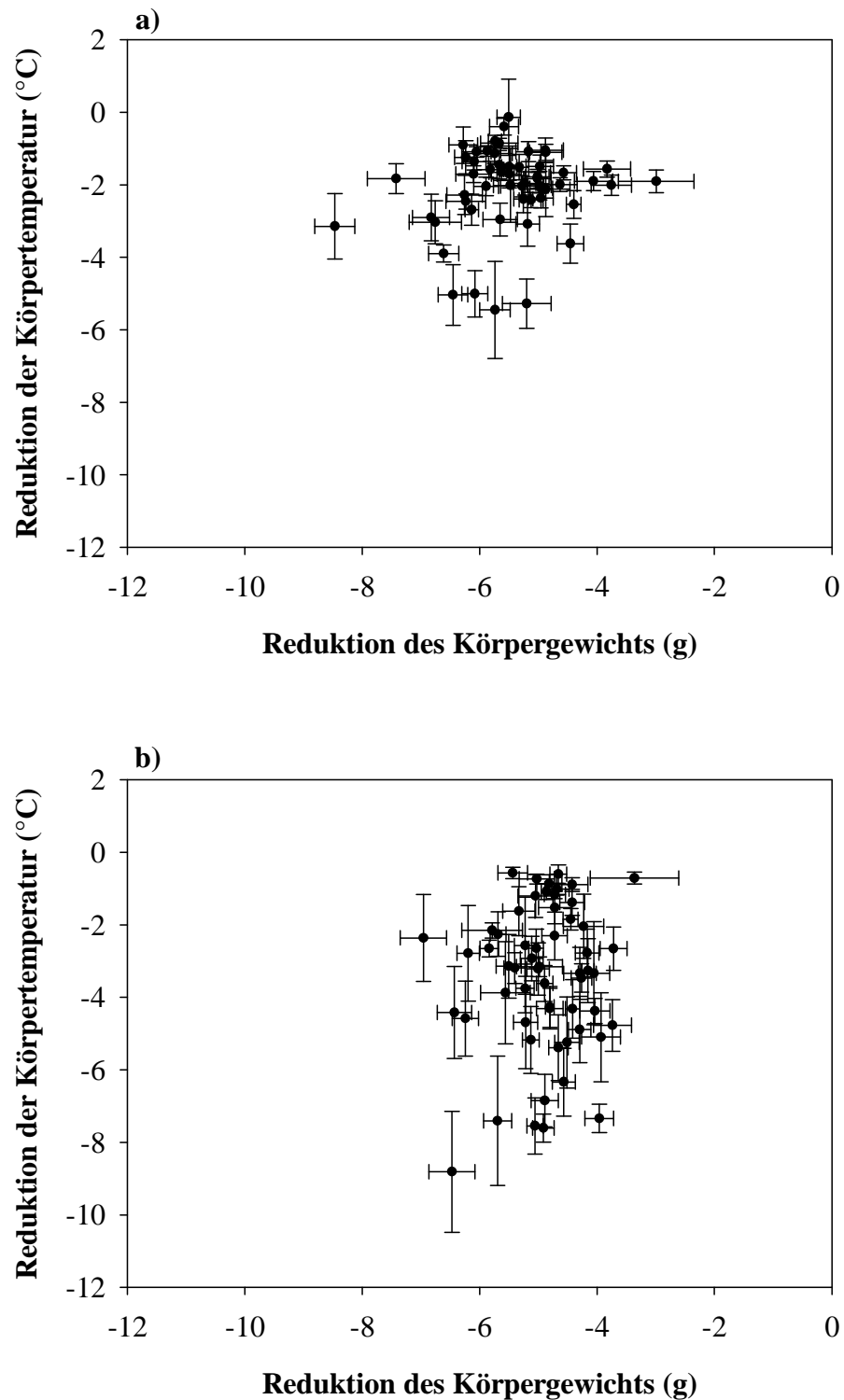
Die Korrelation zwischen Körpergewichtsreduktion und Körpertemperaturabsenkung war unter chronischer Futterreduktion signifikant ($p < 0.001$, Abb. 32). Mäuse, die ihre Körpertemperatur stärker absenkten, verloren weniger Körpergewicht. Die Absenkung der Körpertemperatur war, verglichen mit dem akuten Futterreduktionsregime, gering. Im Fall des akuten Futterreduktionsregimes war der Zusammenhang zwischen Körpergewichtsverlust und Körpertemperaturabsenkung nicht signifikant (Abb. 33). Allerdings fiel auf, dass innerhalb der Männchen nur wenige Linien mit einer starken Körpertemperaturabsenkung reagieren, während bei den Weibchen die Streuung der Temperaturreduktion, bei vergleichbarer Körpergewichtsreduktion, größer ist. Der Variationskoeffizient war zwischen Männchen und Weibchen nicht signifikant unterschiedlich (-16 vs. -15).

**Abb. 32:****Körpertemperaturreduktion in Abhängigkeit der Körpergewichtsreduktion unter chronischer Futterreduktion**

Eingezeichnet wurden Mutanten und Kontrollen der jeweiligen Linien.

(a) Männchen. $\Delta T_b = -2.646 - 0.238 \cdot \Delta BM$, $r^2 = 0.17$, $p < 0.001$, $n = 70$.

(b) Weibchen. $\Delta T_b = -2.593 - 0.215 \cdot \Delta BM$, $r^2 = 0.14$, $p < 0.001$, $n = 67$.

**Abb. 33:****Körpertemperaturreduktion in Abhängigkeit der Körpergewichtsreduktion unter akuter Futterreduktion**

Eingezeichnet wurden Mutanten und Kontrollen der jeweiligen Linien.

Weder bei den Männchen (a) noch bei den Weibchen (b) bestand ein Zusammenhang zwischen der Reduktion des Körpergewichts und dem Absinken der Körpertemperatur (Männchen: $p = 0.491$, $r^2 = 0.03$, $n = 55$; Weibchen: $p = 0.211$, $r^2 = 0.01$, $n = 55$)

3.2.7 Reproduzierbarkeit der Daten

In jährlichen Intervallen durchlaufen Inzuchtlinien zur Qualitätskontrolle den kompletten Primärscreen der GMC. In Tab. 9 wurden Qualitätskontrollen aus drei Jahren dargestellt, um die Reproduzierbarkeit der Daten zu belegen. Die Linien unterscheiden sich im Jahresvergleich nur in ihrer rektalen Körpertemperatur.

Tab. 9: Qualitätsüberprüfung der Messwerte

Anhand jährlicher Messungen wurde die Wiederholbarkeit der Messergebnisse überprüft und mittels 2-faktorieller ANOVA statistisch verglichen.

	2003		2004		2005		2-faktorielle ANOVA		
	♂ (n=7)	♀f (n=7)	♂ (n=7)	♀ (n=7)	♂ (n=8)	♀ (n=8)	p-Wert Jahr	p-Wert Geschlecht	p-Wert Interaktion
BM (g) <i>ad libitum</i>	29.9 ± 0.7	22.0 ± 0.5	29.9 ± 0.6	22.8 ± 0.8	28.7 ± 0.8	22.3 ± 0.4	n. s.	<0.001	n.s.
BM (g) 40 % FR	23.6 ± 0.6	17.5 ± 0.4	25.4 ± 0.5	19.2 ± 1.0	24.3 ± 0.7	19.1 ± 0.4	n. s.	<0.001	n.s.
T _{b,rec} (°C) <i>ad libitum</i>	37.1 ± 0.1	37.3 ± 0.1	36.1 ± 0.1	36.8 ± 0.1	36.6 ± 0.1	36.9 ± 0.1	<0.001	<0.001	<0.01
T _{b,rec} (°C) FR 40 %	35.3 ± 0.2	35.7 ± 0.4	35.0 ± 0.2	35.0 ± 0.3	34.9 ± 0.1	35.0 ± 0.2	n. s.	n. s.	n. s.
E _{met} (kJ d ⁻¹) <i>ad libitum</i>	57.1 ± 2.6	52.8 ± 1.2	55.9 ± 2.2	53.5 ± 1.8	56.4 ± 1.6	57.1 ± 1.8	n. s.	n. s.	n. s.

Sechs MML wurden im *Primärscreen* wiederholt gemessen (ABE17, Arl4, CIN85, EPS8, HWE007, MFP2). Mit Ausnahme der Linie CIN85 konnten bei allen Linien die im ersten Durchlauf erhobenen Ergebnisse bestätigt werden (Tab. 10).

Tab. 10: Vergleich der Ergebnisse der ersten und zweiten Gruppe einer MML

Signifikante Unterschiede wurden Anhand des Verhältnisses der Mutanten zu den Kontrollen durch einen Pfeil gekennzeichnet.

		BM (g)	T _{b,rec} (°C)	E _{up} (kJ d ⁻¹)	Fec (g d ⁻¹)	E _{fec} (kJ g ⁻¹)	E _{met} (kJ d ⁻¹)	F _{ass} (%)
ABE17	1. Messung	↓	↓	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	2. Messung	↓	↓	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Arl4	1. Messung	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	2. Messung	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
CIN85	1. Messung	n.s.	n.s.	↑	n.s.	n.s.	↑	n.s.
	2. Messung	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
EPS8	1. Messung	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↑	n.s.	n.s.
	2. Messung	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↑	n.s.	n.s.
HWE007	1. Messung	↑	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	2. Messung	↑	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
MFP2	1. Messung	↓	↓	m: ↓ w: n.s.	n.s.	n.s.	m: ↓	n.s.
	2. Messung	↓	↓	m: ↓ w: n.s.	n.s.	n.s.	m: ↓	n.s.

3.2.8 Bestätigung bereits bekannter Phänotypen

In insgesamt 48 von 80 MML (60 %) wurden signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen festgestellt. In 27 der 80 Linien (34 %) konnte ein neuer metabolischer Phänotyp beschrieben werden. Bei 12 Linien (15 %) konnte ein zuvor durch den *Mausprovider* beschriebener Phänotyp bestätigt werden. Sechs Linien (7 %) zeigten subtile Unterschiede zwischen den Genotypen deren Effektstärke nicht groß genug waren um einen neuen metabolischen Phänotypen ausreichend zu begründen. Bei einer Linie (MCHR1) wurde Hyperphagie beschrieben, die durch die im metabolischen Screen erhobenen Ergebnisse nicht bestätigt werden konnte.

Tab. 11:**Einteilung der Mausmutantenlinien nach den signifikant veränderten Parametern**

Dargestellt sind alle MML, die signifikante Veränderungen in mindestens einem metabolischen Parameter aufwiesen. MML, deren Phänotyp bestätigt wurde, wurden unterstrichen dargestellt. MML, die Auffälligkeiten mit unklarer Relevanz aufwiesen, wurden *kursiv* markiert. MML, bei denen nur die männlichen Tiere gemessen wurden, wurden **fett** dargestellt. MML, bei denen die Geschlechter anhand von unterschiedlichen Parametern auffällig wurden, wurden blau bzw. rot eingefärbt.

Phänotypen	Beide Geschlechter	Nur in Männchen	Nur in Weibchen
Körpergewicht	<u>ABE12</u> , ALI22, <u>Delta1</u> , <i>Dll1</i> , <i>DNAseX</i> , ESCP, <u>GSK3β</u> , <i>HST009</i> , <u>HWE007</u> , <u>MTO1</u> , Nbea, <i>NCAM</i> , PK	<u>A008A01</u> , Dea3, <u>EYL</u> , HDAC2	ABE2 , Drasic , <u>GAMT</u>
Körpertemperatur	M076C04	<u>ABE2</u>	<i>SIP</i>
Metabolisierte Energie		<i>Elastin</i>	R1-KO
Körpergewicht & Körpertemperatur	ABE1, ABE17, AGA002, ALI18, ALI35, ATE001, ATE2, C3H/Pde6b ⁺ , HST001, <u>KTA041</u> , <u>Medane1</u> , Neuch, Palm, Popdc2, <u>SePP</u>		EYL , <u>MFP2</u>
Körpergewicht & metabolisierte Energie		<u>Drasic</u>	
Körpergewicht, Körpertemperatur & metabolisierte Energie		<u>MFP2</u> , <u>SMA005</u>	
Körpertemperaturabsenkung unter akuter Futterreduktion	EPS8, EYA3, FIN13, MCT8		

3.3 Der metabolische Screen am Beispiel der MML HWE007

Die MML HWE007 durchlief nicht den kompletten *Primärscreen* der GMC sondern wurde ausschließlich im metabolischen Screen untersucht.

3.3.1 Das Körpergewicht

In Abbildung 34 wurde die Körpergewichtsverteilung 14 Wochen alter Mäuse aus der HWE007-Zucht gezeigt. Sowohl bei den Mäusen auf gemischtem Balb/cJxC3HeB/FeJ-Hintergrund, bei denen ausschließlich die Glukoseclearance und das Blutbild untersucht wurden, als auch bei den Mäusen auf C57BL/6J-Hintergrund war ein Geschlechtsdimorphismus zu erkennen. Gemeinsam mit dem Erscheinungsbild der Maus (vergleiche Material und Methoden Abschnitt 2.1.1) eignete sich das Körpergewicht als Phänotypisierungskriterium.

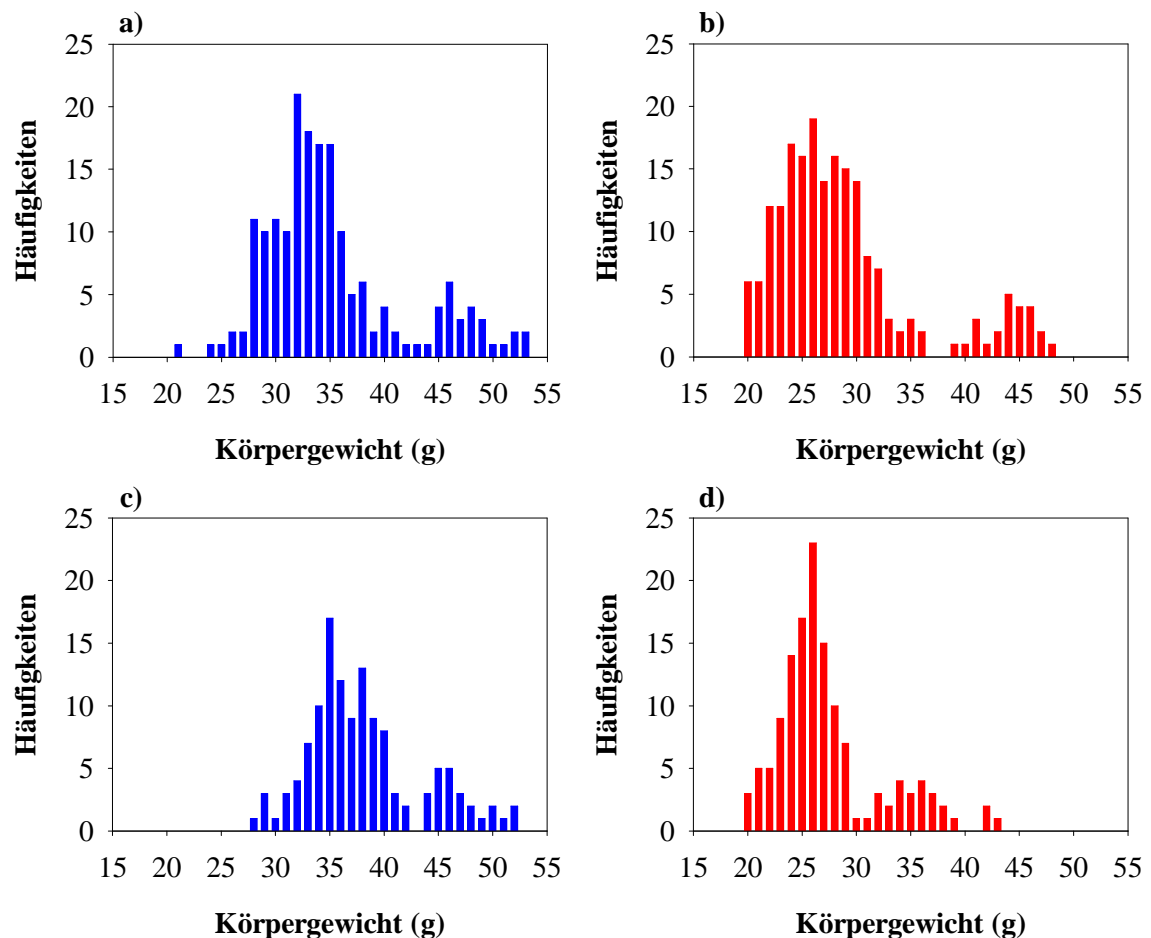


Abb. 34

Häufigkeitsverteilung des Körpergewichts von 14 Wochen alten HWE007-Mäusen

Gemischter Balb/cJxC3HeB/FeJ-Hintergrund: Männchen (a), n = 180; Weibchen (b), n = 196.
C57BL/6J-Hintergrund: Männchen (c), n = 126; Weibchen (d), n = 136.

3.3.2 Analyse der Körperzusammensetzung

Die MML HWE007 fiel durch das signifikant höhere Körpergewicht der Mutanten auf. Mutanten und Kontrollen waren gleich lang (Mutanten m: 9.7 ± 0.2 cm, w: 9.0 ± 0.2 cm; Kontrollen: m: 9.6 ± 0.2 cm, w: 9.7 ± 0.2 cm). Um feststellen zu können, ob das erhöhte Körpergewicht auf einen höheren Fettanteil zurückzuführen war, wurde die Körperzusammensetzung bei 31 HWE007-Mäusen (18 Männchen, 13 Weibchen) und 38 Kontrollen (20 Männchen, 18 Weibchen) im Alter von 35 ± 2 Wochen bestimmt. Zu diesem Zeitpunkt betrug die Körpergewichtsdifferenz zwischen Mutanten und Kontrollen bei den Männchen +14.3 g und bei den Weibchen +16.8 g.

Die Mutanten waren durchschnittlich 49 % schwerer als die Kontrollen. Sie verfügten außerdem über eine um 35 % höhere fettfreie Masse und einen um 19 % höheren Fettanteil (Absolutzahlen siehe Tab.12).

Tab. 12:
Körperzusammensetzung der Mausmutantenlinie HWE007
Mittelwerte \pm SEM

	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n=20	Weibchen n=18	Männchen n=18	Weibchen n=13
Körpergewicht (g)	35.4 ± 0.7	29.7 ± 0.7	49.7 ± 0.8	46.5 ± 0.9
Gewicht der Karkasse (g)	32.6 ± 0.6	26.8 ± 0.7	46.2 ± 0.8	43.6 ± 0.9
Fettfreie Masse (g)	26.2 ± 0.6	21.1 ± 0.7	33.0 ± 0.8	30.3 ± 0.9
Fettgehalt (g)	6.3 ± 0.2	5.7 ± 0.1	13.1 ± 0.3	13.2 ± 0.4
Fettfreie Trockenmasse (g)	10.6 ± 0.2	9.3 ± 0.2	11.6 ± 0.3	10.1 ± 0.4
Wassergehalt (g)	15.6 ± 0.5	11.8 ± 0.6	21.4 ± 0.8	20.2 ± 1.0

Um den Fettgehalt und die fettfreie Masse in Bezug auf das Körpergewicht vergleichen zu können, wurden die beiden Parameter gegen das Karkassengewicht aufgetragen. Zum Vergleich wurden zusätzlich die Werte von 152 Kontrollen anderer MML (C3HeB/FeJ- bzw. C57BL/6J-Hintergrund) eingezeichnet. In Abbildung 35 a wird deutlich, dass Mutanten weniger fettfreie Masse aufwiesen als man es anhand ihres Körper-

gewichts erwarten würde. Abbildung 35 b zeigt, dass der Fettgehalt der Tiere über den erwarteten Werten lag.

Eine statistische Analyse der auf das Karkassengewicht normalisierten Werte bestätigte die niedrigere fettfreie Masse ($p < 0.001$) und den höheren Fettanteil ($p < 0.001$) der Mutanten.

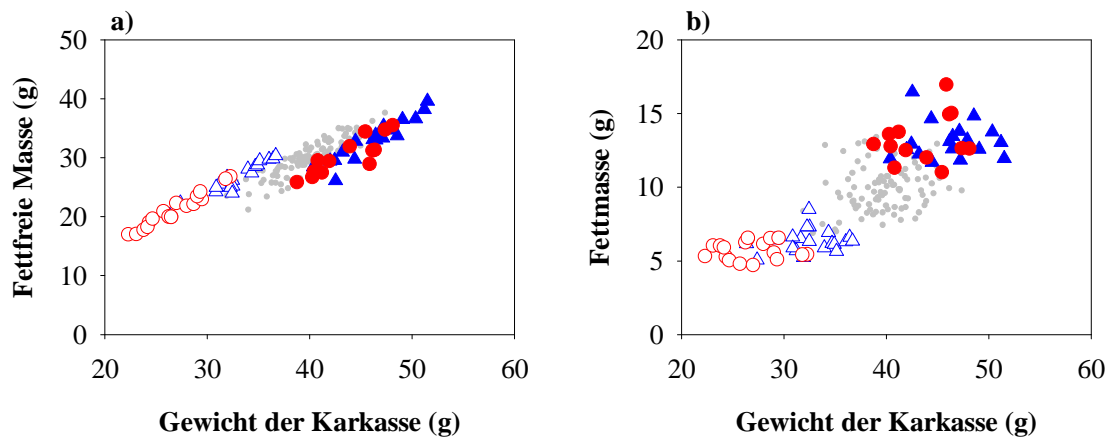


Abb. 35

Fettfreie Masse und Fettgehalt am Beispiel der MML HWE007

(a) Die fettfreie Masse wurde vor dem Hintergrund anderer Wildtypen (grau) in Bezug zum Körpergewicht dargestellt.

(b) Der Fettgehalt wurde vor dem Hintergrund anderer Wildtypen (grau) in Bezug zum Körpergewicht dargestellt.

In beiden Abbildungen wurden Männchen als blaue Dreiecke dargestellt und Weibchen als rote Kreise. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

Kontrollen: Männchen $n = 20$, Weibchen $n = 18$; Mutanten: Männchen $n = 18$, Weibchen $n = 13$.

3.3.3 Bestimmung der Energieaufnahme

Die Energieaufnahme der HWE007-Mäuse wurde im Alter von 18 Wochen und im Alter von einem Jahr untersucht, um mögliche Alterseffekte feststellen zu können.

Im Alter von 18 Wochen waren die Mutanten beider Geschlechter signifikant schwerer als die Kontrollen ($p < 0.001$).

Die Körpertemperatur der HWE007-Mutanten unterschied sich nicht von der der Kontrollen.

Der statistische Vergleich der Absolutwerte der metabolisierten Energie zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Phänotypen. Ein Vergleich der auf das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie unter war hier nicht möglich, da die

Variablen der multiplen Regression eine Multikollinearität aufwiesen, die zu einer falschen Aussage des linearen Regressionsmodells führen kann. Um die metabolisierte Energie der Phänotypen dennoch vergleichen zu können, wurde sie in Bezug auf das Körpergewicht dargestellt (Abb. 36). Obwohl die Mutanten durchschnittlich 10.4 g (Männchen) bzw. 9.3 g (Weibchen) schwerer waren als die jeweiligen Kontrollen, unterschied sich die metabolisierte Energie der Phänotypen nicht voneinander. Im direkten Vergleich mit den Kontrollen metabolisierten die Mutanten demzufolge weniger Energie, als man es für ihr Körpergewicht erwarten würde.

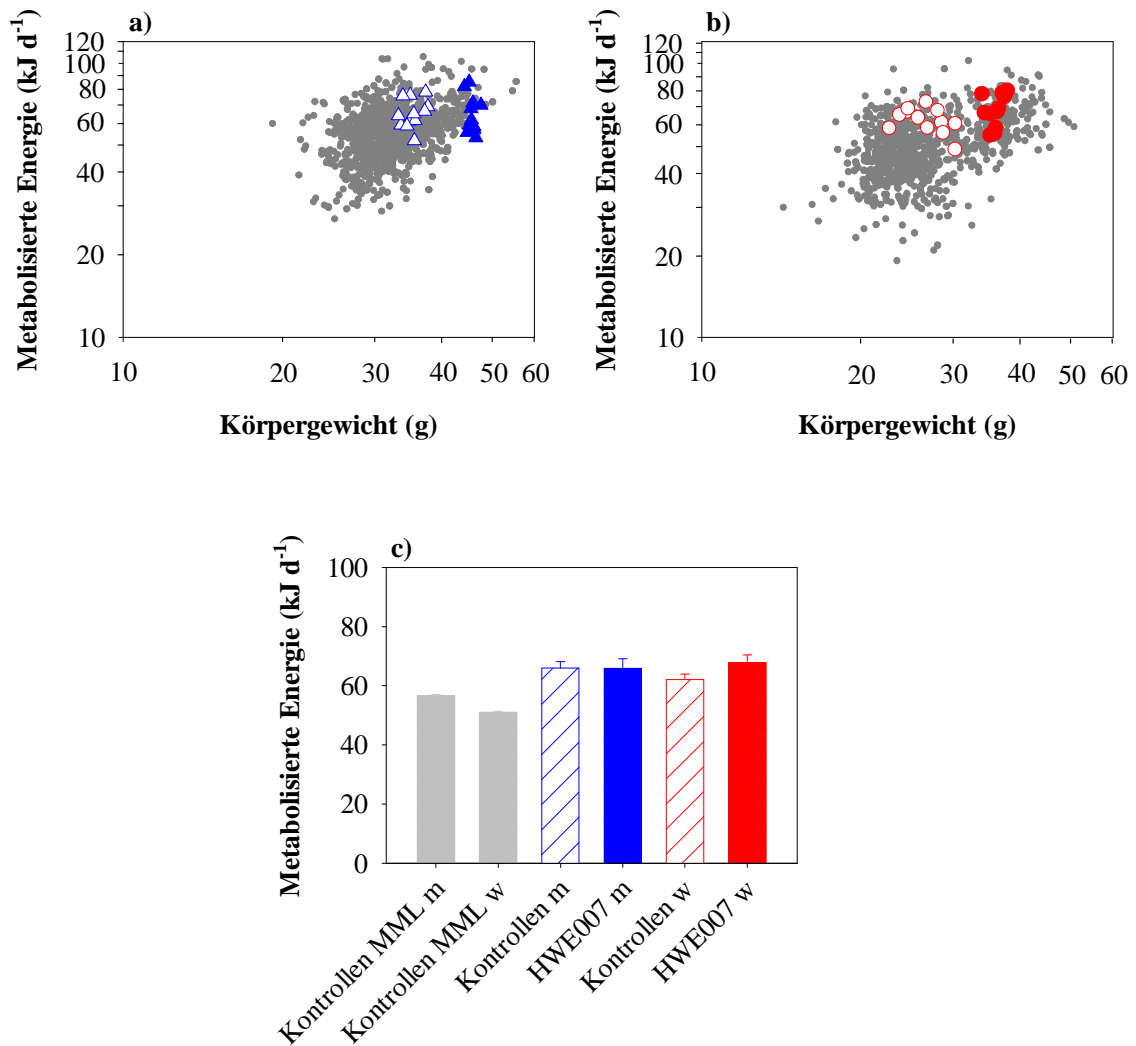
In der Verdauungseffizienz bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den Phänotypen.

Tab 13: Energieaufnahme der MML HWE007 im Alter von 18 Wochen

MW \pm SEM.

<i>ad libitum</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 12	Weibchen n = 12	Männchen n = 11	Weibchen n = 11
Körpergewicht (g)	35.3 \pm 0.4	26.6 \pm 0.7	45.7 \pm 0.3	35.9 \pm 0.4
Körpertemperatur (°C)	36.4 \pm 0.1	36.8 \pm 0.1	36.5 \pm 0.1	36.7 \pm 0.1
Metabolisierte Energie (kJ d ⁻¹)	65.91 \pm 2.30	60.71 \pm 2.52	65.90 \pm 3.21	66.84 \pm 2.62
Assimilationskoeffizient (%)	79.9 \pm 0.6	79.8 \pm 0.6	78.7 \pm 0.4	81.2 \pm 0.8

Der Unterschied im Körpergewicht blieb bei chronischer Futterreduktion bestehen ($p < 0.001$). Während es keinen Unterschied in der Körpergewichtsabnahme gab, senkten die Mutanten beider Geschlechter die Körpertemperatur signifikant weniger stark ab als die Kontrollen (Mutanten: m: -0.55 ± 0.15 °C, f: -0.64 ± 0.18 °C; Kontrollen: m: -1.07 ± 0.16 °C, w: -1.53 ± 0.24 °C; $p < 0.05$).

**Abb. 36:****Metabolisierte Energie der MML HWE007 im Alter von 18 Wochen**

Die metabolisierte Energie wurde vor dem Hintergrund gleichaltriger Kontrollen anderer MML (grau) in Abhängigkeit vom Körpergewicht dargestellt.

(a) HWE007 Männchen, (b) HWE007 Weibchen. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

(c) Vergleich der metabolisierten Energie von HWE007 und den Kontrollen anderer MML

Kontrollen: Männchen n = 12, Weibchen n = 12; Mutanten: Männchen n = 11, Weibchen n = 11; Kontrollen anderer MML: Männchen n = 1139, Weibchen n = 1088.

Bei einjährigen HWE007-Mäusen waren die Mutanten beider Geschlechter signifikant schwerer als die Kontrollen (m: $p < 0.01$, w: $p < 0.001$). Allerdings betrug die Gewichts Differenz zwischen den Phänotypen bei den Männchen nur noch +4.6 g, wohingegen die Gewichts Differenz der Weibchen (+15.3 g) größer war als im Alter von 18 Wochen. Die rektale Körpertemperatur unterschied sich auch bei den einjährigen Mutanten nicht von der der Kontrollen.

Ein statistischer Unterschied in der absolut metabolisierten Energie zwischen Mutanten und Kontrollen konnte nicht nachgewiesen werden. Eine statistische Analyse der auf

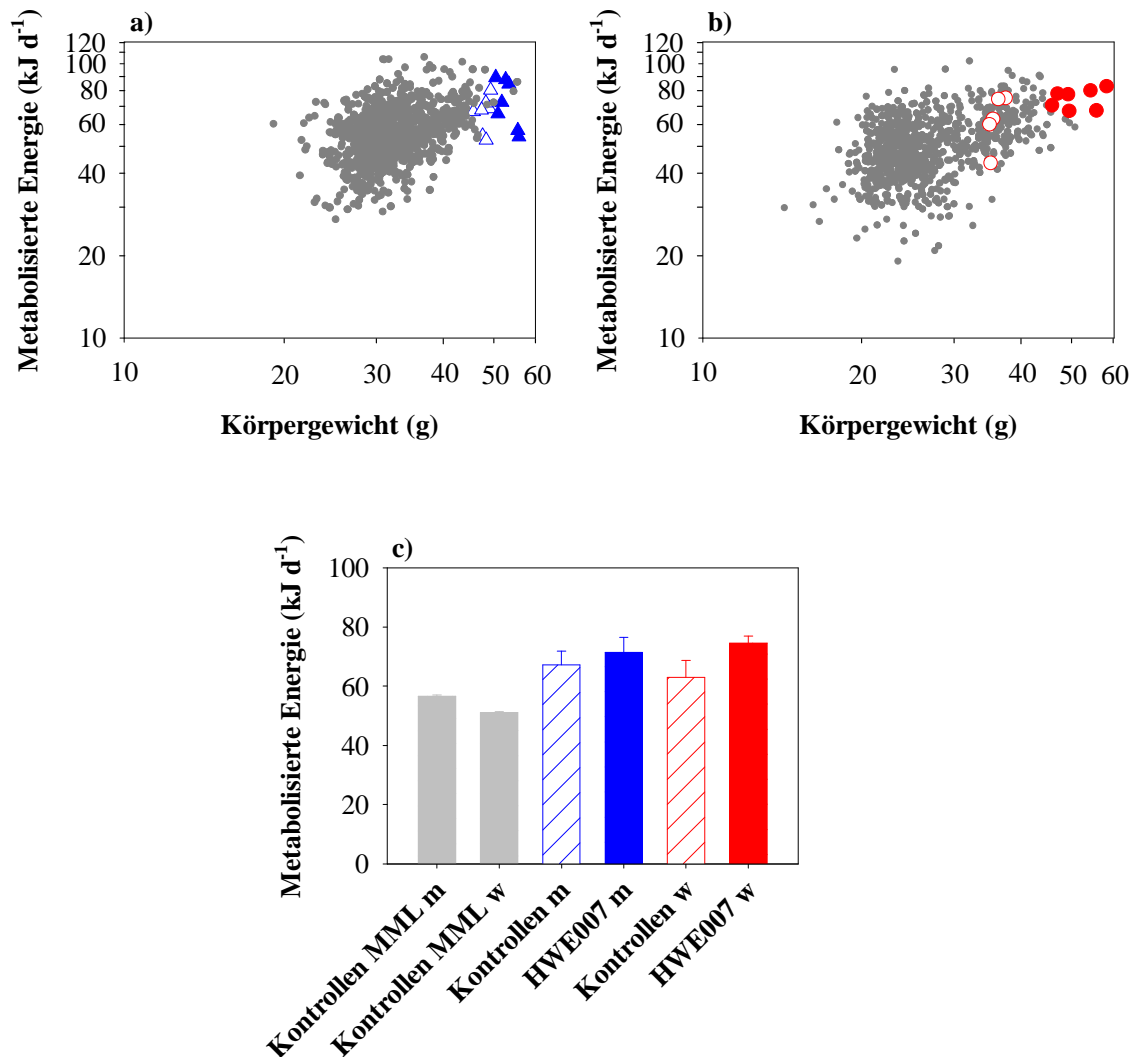
das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie zeigte keine signifikante Abweichung zwischen Mutanten und Kontrollen. Zusätzlich wurde auch hier die metabolisierte Energie in Bezug auf das Körpergewicht graphisch dargestellt (Abb. 37). Bei den Männchen bestand kein sichtbarer Unterschied zwischen den Phänotypen, wohingegen die mutanten Weibchen mehr Energie metabolisierten als ihre Kontrollen. Auch die einjährigen Mutanten unterschieden sich in der Verdauungseffizienz nicht von ihren Kontrollen.

Tab 14: Energieaufnahme der MML HWE007 im Alter von einem Jahr

MW \pm SEM.

<i>ad libitum</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 7	Weibchen n = 5	Männchen n = 7	Weibchen n = 7
Körpergewicht (g)	48.2 \pm 0.5	35.8 \pm 0.5	52.8 \pm 0.9	51.3 \pm 1.8
Körpertemperatur (°C)	36.7 \pm 0.1	37.0 \pm 0.1	36.7 \pm 0.0	37.2 \pm 0.1
Metabolisierte Energie (kJ d ⁻¹)	67.25 \pm 4.55	63.02 \pm 5.74	71.50 \pm 4.98	74.57 \pm 2.35
Assimilationskoeffizient (%)	80.0 \pm 0.8	83.6 \pm 0.5	81.2 \pm 1.2	82.0 \pm 0.5

Der signifikante Körpergewichtsunterschied blieb bei chronischer Futterreduktion bestehen (Mutanten: m: 45.4 \pm 0.9 g, w: 45.2 \pm 1.3 g; Kontrollen: m: 41.4 \pm 1.0 g, w: 30.3 \pm 0.5 g, $p < 0.01$). Die Mutanten unterschieden sich weder in der Gewichtsabnahme noch in der Körpertemperaturabsenkung von den Kontrollen.

**Abb. 37:****Metabolisierte Energie der MML HWE007 im Alter von einem Jahr**

Die metabolisierte Energie wurde vor dem Hintergrund 18 Wochen alter Kontrollen anderer MML (grau) in Abhängigkeit vom Körpergewicht dargestellt.

(a) HWE007 Männchen, (b) HWE007 Weibchen. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

(c) Vergleich der metabolisierten Energie von HWE007 und den Kontrollen anderer MML

Kontrollen: Männchen n = 7, Weibchen n = 5; Mutanten: Männchen n = 7, Weibchen n = 7; Kontrollen anderer MML: Männchen n = 1139, Weibchen n = 1088.

3.3.4 Bestimmung des Basalstoffwechsels

Bei einjährigen HWE007-Mäusen wurde eine Bestimmung des Basalstoffwechsels durchgeführt (Abb. 38, Tab. 15). Die Thermoneutralzone der Mutanten lag bei einer Umgebungstemperatur von 32 °C, die der Kontrollen in einem Bereich von 32-32 °C. Trotz des Körpergewichtsunterschieds zwischen Mutanten und Kontrollen war kein signifikanter genotypspezifischer Unterschied im Basalstoffwechsel (BMR) feststellbar. Ein statistischer Vergleich des auf das Körpergewicht normalisierten BMR konnte aufgrund der Multikollinearität der Variablen nicht korrekt durchgeführt werden. Eine graphische Darstellung des BMR in Abb. XX zeigte, dass sich bei beiden Geschlechtern der BMR der Mutanten nicht von dem der Kontrollen unterschied. Unter Berücksichtigung des Körpergewichts war der Energieverbrauch der Mutanten folglich niedriger als der der Kontrollen.

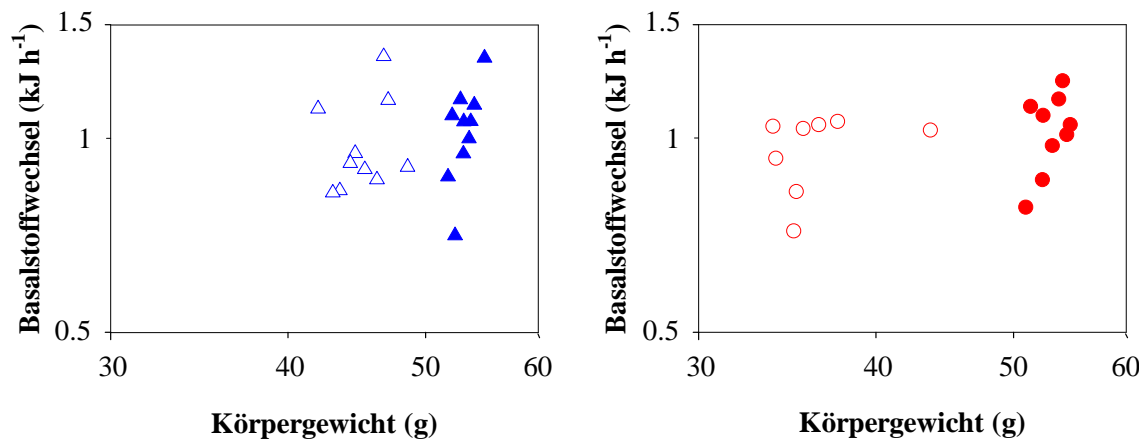


Abb. 38:

Der Energieverbrauch und Körpertemperatur bei verschiedenen Umgebungstemperaturen am Beispiel der MML HWE007 (Alter: 1 Jahr)

Hier wurde der Energieverbrauch bei verschiedenen Umgebungstemperaturen von männlichen (a) und weiblichen (c) Tieren gezeigt. Weiterhin wurde die entsprechende Körperkerntemperatur der männlichen (b) und weiblichen (d) Tiere dargestellt.

Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß belassen.

Kontrollen: Männchen n = 8, Weibchen n = 8; Mutanten: Männchen n = 8, Weibchen n = 7.

Tab 15: Basalstoffwechsel der MML HWE007 im Alter von einem Jahr
MW \pm SEM.

<i>ad libitum</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 8	Weibchen n = 8	Männchen n = 8	Weibchen n = 7
Körpergewicht (g)	45.3 \pm 0.8	36.4 \pm 1.1	53.2 \pm 0.4	52.6 \pm 0.4
Basalstoffwechsel (kJ h ⁻¹)	1.01 \pm 0.06	0.96 \pm 0.04	1.02 \pm 0.06	1.03 \pm 0.06

3.3.5 Bestimmung des Energieverbrauchs

Zusätzlich zur Energieaufnahme wurde auch der Energieverbrauch der MML HWE007 im Alter von 21 und 35 Wochen und bei einjährigen Mäusen gemessen.

Im Alter von 21 Wochen wiesen Mutanten und Kontrollen dieser Stichprobe einen signifikanten Gewichtsunterschied auf ($p < 0.001$; Tab. 16).

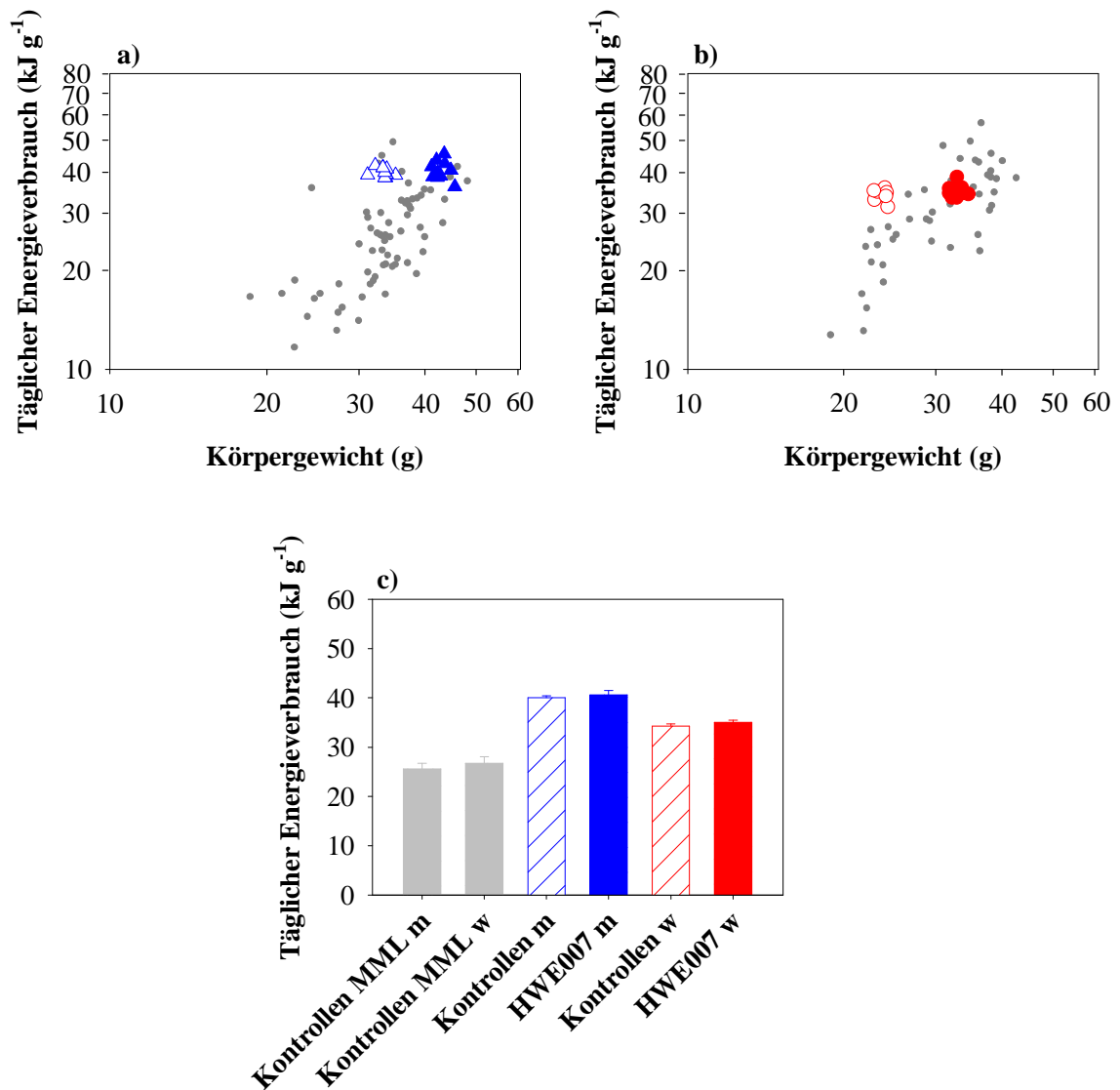
Die Körperkerntemperatur von Mutanten und Kontrollen war nicht signifikant unterschiedlich.

Der tägliche Energieverbrauch der Mutanten wich trotz des Körpergewichtsunterschieds nicht von dem der Kontrollen ab. Ein statistischer Vergleich des auf das Körpergewicht normalisierten Energieverbrauchs konnte aufgrund der Multikollinearität der Variablen nicht korrekt durchgeführt werden. Der tägliche Energieverbrauch der Phänotypen wurde in Bezug auf ihr Körpergewicht in Abbildung 39 graphisch dargestellt. In beiden Geschlechtern wurde deutlich, dass sich der Energieverbrauch der Mutanten nicht von dem der Kontrollen unterschied, was auf einen vergleichsweise niedrigeren Energieverbrauch der schweren Mutanten hinweist.

Weiterhin war der RQ der Mutanten niedriger als der der Kontrollen ($p < 0.05$).

Tab 16: Energieverbrauch der MML HWE007 im Alter von 21 Wochen
 MW \pm SEM.

<i>ad libitum</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 10	Weibchen n = 10	Männchen n = 10	Weibchen n = 10
Körpergewicht (g)	33.0 \pm 0.3	23.3 \pm 0.2	42.5 \pm 0.4	32.4 \pm 0.3
Körpertemperatur 24 h (°C)	37.2 \pm 0.2	37.0 \pm 0.1	36.8 \pm 0.4	36.1 \pm 0.3
Körpertemperatur Tag (°C)	36.7 \pm 0.1	36.6 \pm 0.1	36.6 \pm 0.2	36.0 \pm 0.3
Körpertemperatur Nacht (°C)	37.7 \pm 0.1	37.7 \pm 0.2	37.0 \pm 0.3	36.6 \pm 0.3
Energieverbrauch 24 h (kJ d ⁻¹)	40.03 \pm 0.39	34.25 \pm 0.42	40.61 \pm 0.87	35.04 \pm 0.48
Energieverbrauch Tag (kJ 12h ⁻¹)	17.76 \pm 0.18	14.22 \pm 0.07	19.16 \pm 0.39	16.62 \pm 0.11
Energieverbrauch Nacht (kJ 12h ⁻¹)	22.27 \pm 0.44	20.03 \pm 0.42	21.45 \pm 0.56	18.42 \pm 0.40
RQ	0.89 \pm 0.01	0.94 \pm 0.02	0.85 \pm 0.01	0.83 \pm 0.02
Aktivität 24 h (Ereignisse d ⁻¹)	7170 \pm 685	13371 \pm 2527	7206 \pm 859	9034 \pm 1891
Aktivität Tag (Ereignisse 12h ⁻¹)	2010 \pm 112	3457 \pm 688	2455 \pm 372	2077 \pm 184
Aktivität Nacht (Ereignisse 12h ⁻¹)	5160 \pm 450	9914 \pm 1019	4751 \pm 405	6957 \pm 832

**Abb. 39:****Energieverbrauch der MML HWE007 im Alter von 21 Wochen**

Der Energieverbrauch wurde vor dem Hintergrund gleich alter Kontrollen anderer MML (grau) in Abhängigkeit vom Körpergewicht dargestellt.

(a) HWE007 Männchen, (b) HWE007 Weibchen. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

(c) Vergleich des Energieverbrauchs von HWE007 und den Kontrollen anderer MML

Kontrollen: Männchen $n = 10$, Weibchen $n = 10$; Mutanten: Männchen $n = 10$, Weibchen $n = 10$; Kontrollen anderer MML: Männchen $n = 66$, Weibchen $n = 44$.

Alle Mäuse zeigten sowohl im Energieverbrauch als auch in der Körperkerntemperatur und lokomotorischen Aktivität höhere Werte während der Dunkelperiode. Allerdings war diese zirkadiane Rhythmik bei den Kontrollen deutlicher ausgeprägt als bei den Mutanten. In Abb. 40 ist dies beispielhaft für eine Mutante und ein Kontrolltier gezeigt. Beide Tiere glichen sich in ihrem Tagesenergieverbrauch (35.71 kJ d^{-1} vs. 35.35 kJ d^{-1}), die

Mutante war während der Dunkelphase jedoch weniger aktiv und die Amplitude ihrer Körpertemperatur war geringer.

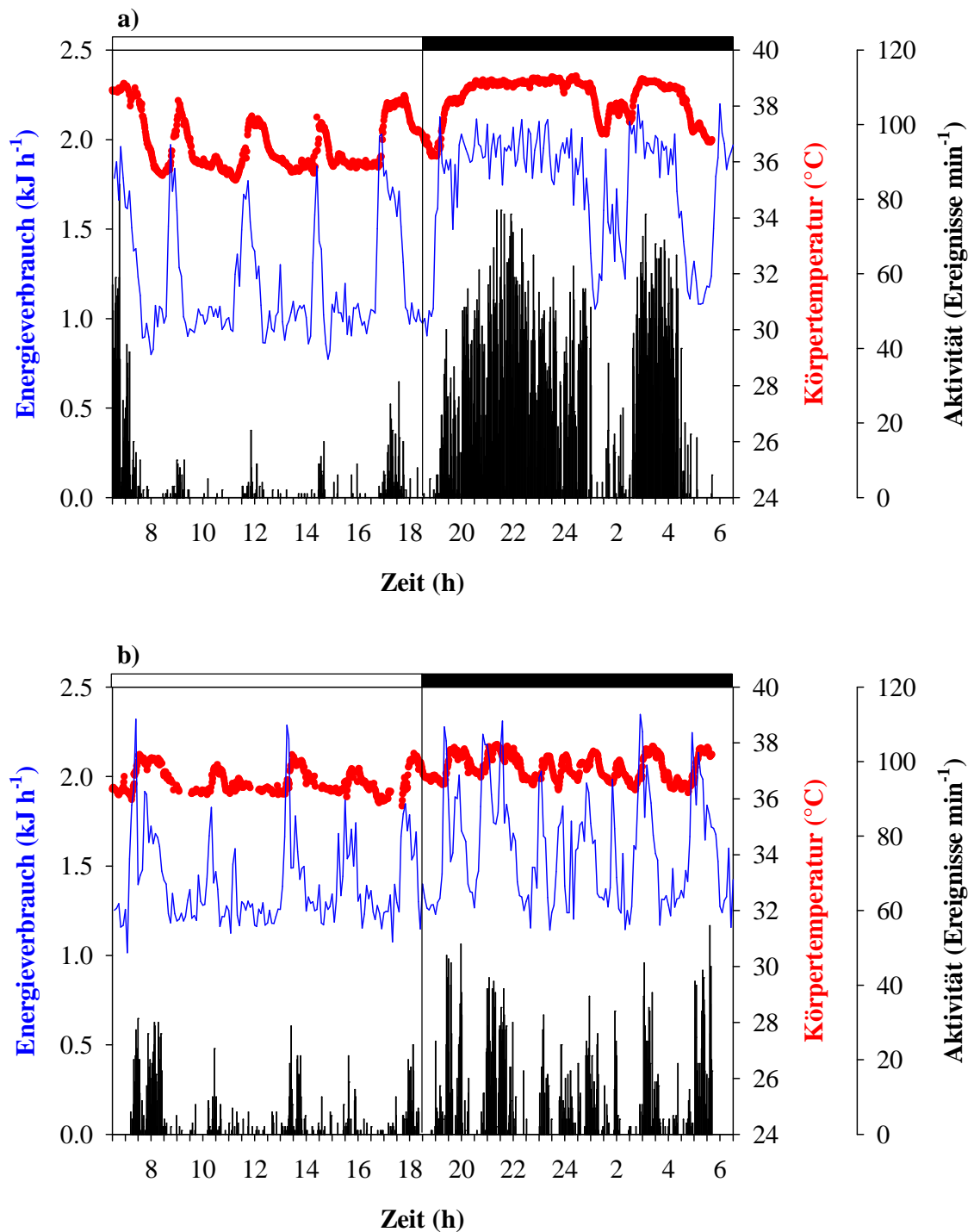


Abb. 40:

Zirkadiane Rhythmik der MML HWE007

Die zirkadiane Rhythmik am Beispiel einer Kontrolle (a) und einer Mutante (b).

Die Hell- bzw. Dunkelphase wurde durch einen weißen bzw. schwarzen Balken am oberen Rand der Grafik dargestellt. Fehlende Werte sind auf Messausfälle zurückzuführen.

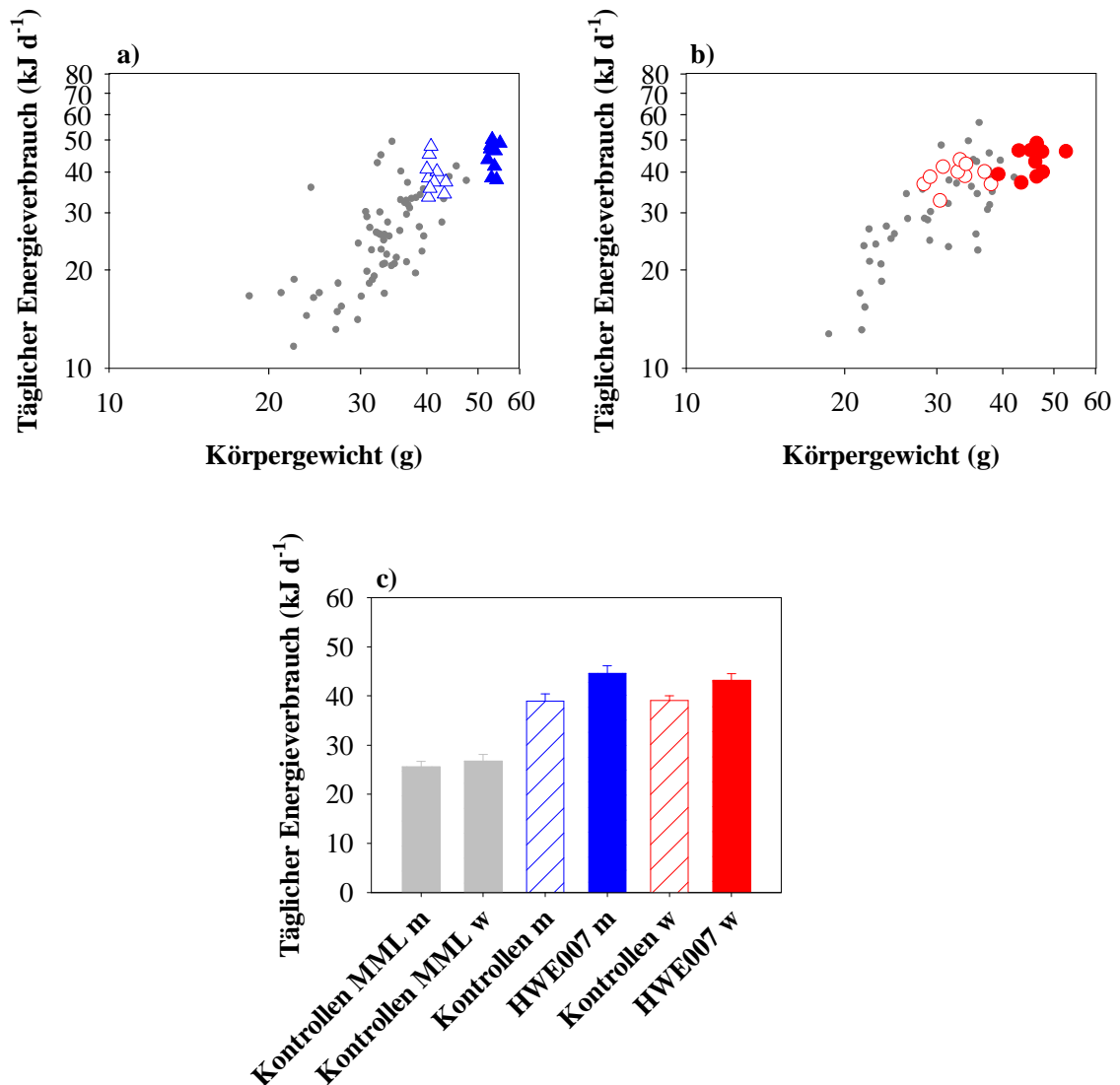
Im Alter von 35 Wochen waren die Mutanten signifikant schwerer als die Kontrollen ($p < 0.001$; Tab. 17).

Der statistische Vergleich des täglichen Energieverbrauchs pro Tier ergab einen signifikant höheren Energieverbrauch der Mutanten in beiden Geschlechtern ($p < 0.001$). Die vorhandene Multikollinearität ließ eine korrekte Durchführung einer multiplen Regressionsanalyse unter Berücksichtigung des Körpergewichts nicht zu. Die Mutanten wurden graphisch mit den Kontrollen verglichen (Abb. 41), woraus deutlich wurde, dass der Energieverbrauch der Mutanten auch in dieser Altersstufe unterhalb der für ihr Körpergewicht erwarteten Werte liegt.

Der signifikant niedrigere RQ der Mutanten ($p < 0.05$) konnte in dieser Altersstufe bestätigt werden.

Tab 17: Energieverbrauch der MML HWE007 im Alter von 35 Wochen
MW \pm SEM.

<i>ad libitum</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 10	Weibchen n = 10	Männchen n = 9	Weibchen n = 10
Körpergewicht (g)	41.3 \pm 0.4	32.7 \pm 1.0	53.6 \pm 0.3	45.6 \pm 1.1
Energieverbrauch 24 h (kJ d ⁻¹)	38.93 \pm 1.47	39.04 \pm 1.01	44.63 \pm 1.53	43.19 \pm 1.31
Energieverbrauch Tag (kJ 12h ⁻¹)	17.81 \pm 0.76	17.63 \pm 0.58	19.98 \pm 0.73	19.82 \pm 0.74
Energieverbrauch Nacht (kJ 12h ⁻¹)	21.00 \pm 0.78	21.41 \pm 0.51	24.64 \pm 0.83	23.37 \pm 0.69
RQ	0.89 \pm 0.01	0.94 \pm 0.02	0.85 \pm 0.01	0.83 \pm 0.02

**Abb. 41:****Energieverbrauch der MML HWE007 im Alter von 35 Wochen**

Der Energieverbrauch wurde vor dem Hintergrund 21 Wochen alter Kontrollen anderer MML (grau) in Abhängigkeit vom Körpergewicht dargestellt.

(a) HWE007 Männchen, (b) HWE007 Weibchen. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

(c) Vergleich des Energieverbrauchs von HWE007 und den Kontrollen anderer MML.

Kontrollen: Männchen n = 10, Weibchen n = 10; Mutanten: Männchen n = 9, Weibchen n = 10; Kontrollen anderer MML: Männchen n = 66, Weibchen n = 44.

Auch bei den einjährigen HWE007-Mäusen war das Körpergewicht der Mutanten signifikant höher als das der Kontrollen ($p < 0.001$; Tab. 18, Abb. 42). Die Gewichtsdivergenz der männlichen Phänotypen ($\Delta\text{KG} = 6.9 \text{ g}$) war in diesem Alter kleiner als die der weiblichen Phänotypen ($\Delta\text{KG} = 11.8 \text{ g}$).

Auch in dieser Altersstufe konnte kein signifikanter Unterschied in der Körperkerntemperatur nachgewiesen werden.

Der Vergleich des Energieverbrauchs pro Tier ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Phänotypen. Eine statistische Analyse des auf das Körpergewicht normierten Energieverbrauchs belegte einen signifikant niedrigeren Energieverbrauch der Mutanten ($p < 0.01$). Die Darstellung in Abb. 42 konnte ebenfalls verdeutlichen, dass die Mutanten trotz ihres höheren Körpergewichts nicht mehr Energie verbrauchten als ihre Kontrollen und folglich für das hohe Körpergewicht der Mutanten einen vergleichsweise niedrigeren Energieverbrauch aufwiesen.

Der signifikant niedrigere RQ der Mutanten beider Geschlechter ($p < 0.05$) bestand auch bei den einjährigen Tieren.

Tab 18: Energieverbrauch der MML HWE007 im Alter von einem Jahr

MW \pm SEM.

<i>ad libitum</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 10	Weibchen n = 8	Männchen n = 10	Weibchen n = 8
Körpergewicht (g)	42.7 \pm 0.6	39.3 \pm 1.5	49.6 \pm 0.4	51.1 \pm 0.9
Körpertemperatur 24 h (°C)	37.1 \pm 0.1	37.3 \pm 0.3	37.0 \pm 0.7	37.2 \pm 0.1
Körpertemperatur Tag (°C)	36.8 \pm 0.1	37.04 \pm 0.1	36.5 \pm 0.1	36.7 \pm 0.1
Körpertemperatur Nacht (°C)	37.4 \pm 0.1	37.6 \pm 0.1	37.6 \pm 0.1	37.3 \pm 0.1
Energieverbrauch 24 h (kJ d ⁻¹)	45.76 \pm 1.03	42.94 \pm 1.49	42.28 \pm 2.72	47.50 \pm 1.58
Energieverbrauch Tag (kJ 12h ⁻¹)	20.80 \pm 0.53	19.85 \pm 0.85	18.85 \pm 1.22	21.48 \pm 0.86
Energieverbrauch Nacht (kJ 12h ⁻¹)	24.96 \pm 0.53	23.09 \pm 0.77	23.43 \pm 1.53	26.02 \pm 0.76
RQ	0.92 \pm 0.01	0.89 \pm 0.01	0.86 \pm 0.01	0.86 \pm 0.02
Aktivität 24 h (Ereignisse d ⁻¹)	5053 \pm 656	6814 \pm 933	6198 \pm 998	6628 \pm 856
Aktivität Tag (Ereignisse 12h ⁻¹)	1240 \pm 255	1784 \pm 378	1264 \pm 280	1178 \pm 364
Aktivität Nacht (Ereignisse 12h ⁻¹)	3813 \pm 206	5030 \pm 860	4934 \pm 509	5450 \pm 470

Die lokomotorische Aktivität der Mutanten wich nicht signifikant von der der Kontrollen ab. Wie schon im Alter von 21 Wochen beschrieben, zeigten auch einjährige HWE007-Mäuse eine zirkadiane Rhythmik in den Parametern Energieverbrauch, Körpertemperatur und Aktivität. In dieser Altersstufe war die zirkadiane Rhythmik bei Mutanten und Kontrollen gleich stark ausgeprägt.

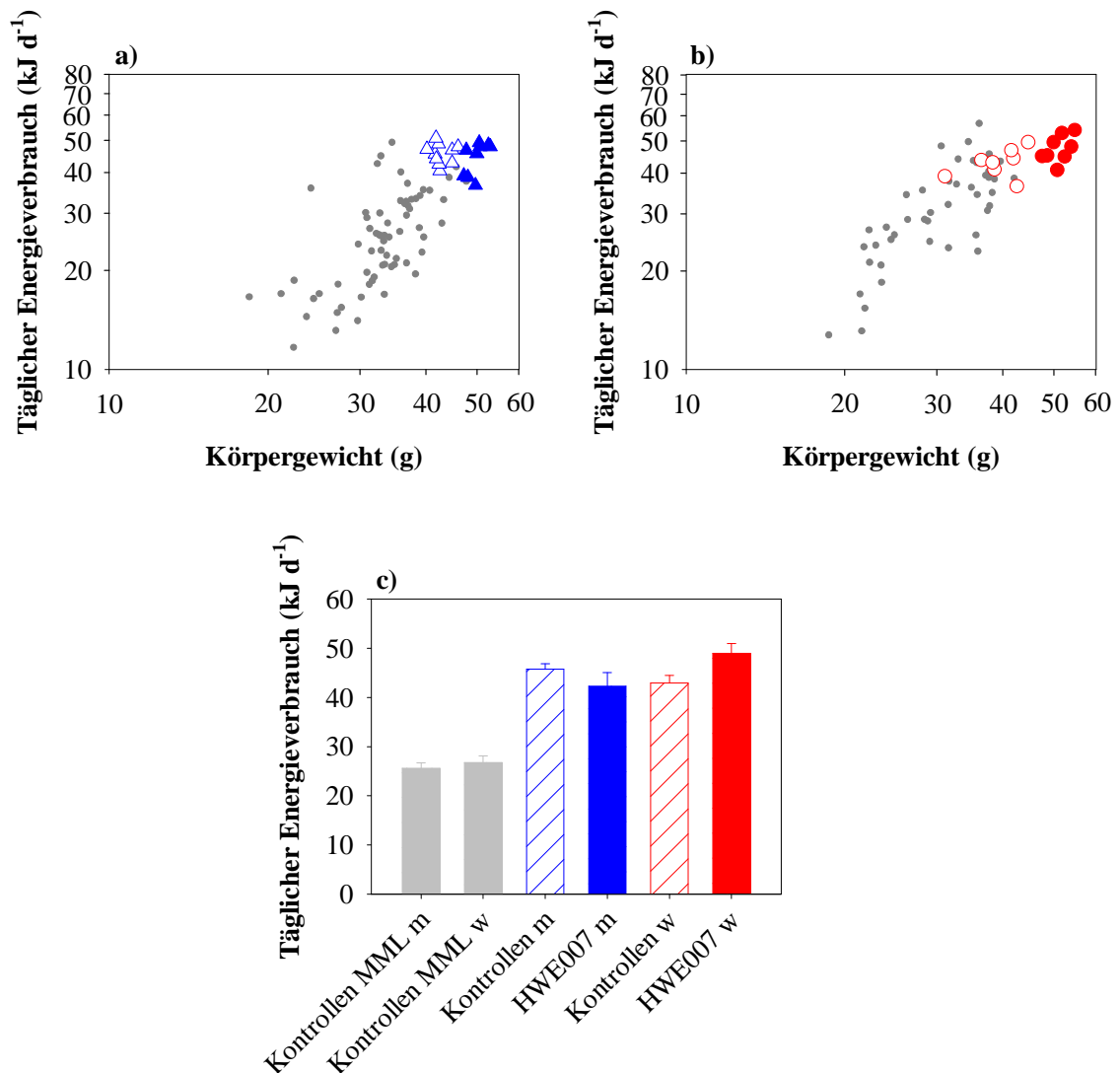


Abb. 42:

Energieverbrauch der MML HWE007 im Alter von einem Jahr

Der Energieverbrauch wurde vor dem Hintergrund 21 Wochen alter Kontrollen anderer MML (grau) in Abhängigkeit vom Körpergewicht dargestellt.

(a) HWE007 Männchen, (b) HWE007 Weibchen. Die Symbole der Mutanten wurden ausgefüllt, die der Kontrollen weiß gelassen.

(c) Vergleich des Energieverbrauchs von HWE007 und den Kontrollen anderer MML.

Kontrollen: Männchen n = 10, Weibchen n = 8; Mutanten: Männchen n = 10, Weibchen n = 8; Kontrollen anderer MML: Männchen n = 66, Weibchen n = 44.

3.3.6 Die Glukoseclearance

Da Übergewicht einen Risikofaktor für das Auftreten von Diabetes darstellt, wurden HWE007-Mäuse mit gemischtem Balb/cJxC57BL/6J-Hintergrund im Alter von 22 Wochen auf eine gestörte Glukosetoleranz untersucht. Die Mäuse wurden über Nacht (ca. 15 Stunden) gefastet und die Blutglukosekonzentration im Fastenzustand bestimmt. Bereits zu diesem Zeitpunkt zeigten Mutanten beider Geschlechter eine signifikant höhere Blutglukosekonzentration als die Kontrollen ($p < 0.01$). Eine Glukosedosis von 2 g kg^{-1} wurde intraperitoneal injiziert, um den Blutglukosespiegel im zeitlichen Verlauf von 120 Minuten, und damit die Glukoseclearance, bestimmen zu können. Im gesamten Versuchsverlauf lag die Blutglukosekonzentration der Mutanten über der der Kontrollen (Abb. 43 a, b), so dass die Fläche unter der Kurve bei den Mutanten signifikant ($p < 0.001$) größer war als bei den Kontrollen (Abb. 43 c, Tab. 19).

Tab 19: Blutglukosekonzentration der MML HWE007
MW \pm SEM.

	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 10	Weibchen n = 7	Männchen n = 5	Weibchen n = 4
Blutglukosekonzentration gefasteter Mäuse (mg dl^{-1})	95.67 ± 0.94	68.00 ± 4.59	119.6 ± 3.17	89.25 ± 4.40
Fläche unter der Kurve ($\text{mg dl}^{-1} \text{ min}^{-1}$)	26761 ± 2263	20265 ± 1058	33728 ± 954	29998 ± 3099

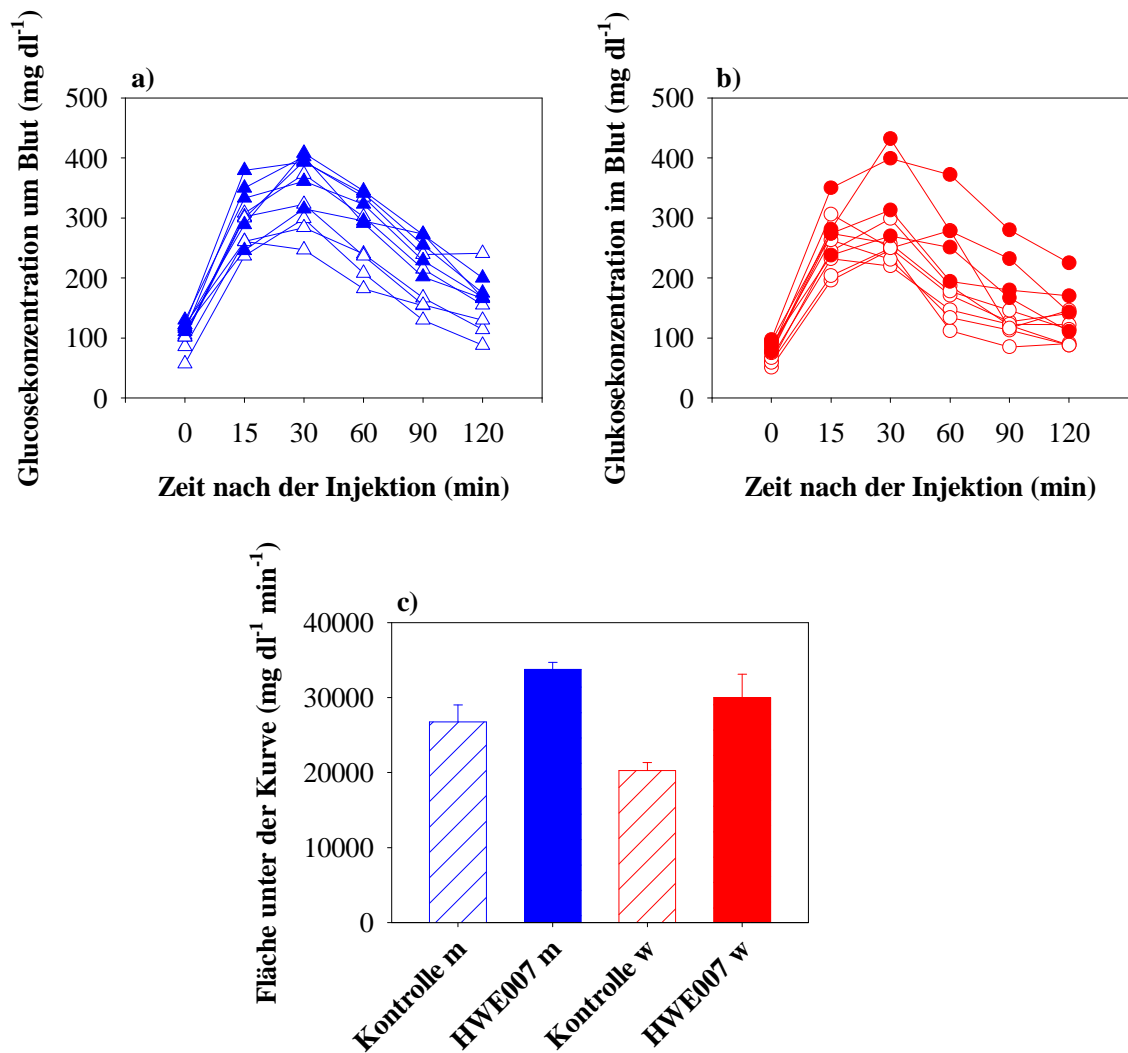


Abb. 43:

Glucoseclearance am Beispiel der MML HWE007

Die Blutglukosekonzentration (a) der Männchen und (b) der Weibchen im Zeitverlauf. Mutanten wurden mit ausgefüllten Symbolen dargestellt, Kontrollen mit unausgefüllten Symbolen.

(c) Die Fläche unter der Kurve männlicher (blau) und weiblicher (rot) HWE007 (ausgefüllt) und Kontrollen (schraffiert).

Kontrollen: Männchen n = 10, Weibchen n = 7; Mutanten: Männchen n = 5, Weibchen n = 4.

3.3.7 Klinische Chemie

Mit der Entwicklung von Übergewicht gehen häufig Veränderungen des Blutbildes einher. In Kooperation mit dem klinisch-chemischen Screen der GMC wurde das Blutbild der MML HWE007 im Alter von 30 Wochen untersucht (vergl. Tab. 20 und 21).

Gemessen wurden die Blutwerte der MML HWE007 auf zwei genetischen Hintergründen: C57BL/6J (3. Generation) und gemischtem C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrund.

Im Elektrolythaushalt (Natrium, Kalium, Kalzium, Chlor, anorganisches Phosphat) der Mäuse gab es bei keinem der beiden Hintergründe signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen.

Die Triglyzeridkonzentration war ebenfalls nicht verändert. Das Gesamtcholesterin war in den Mutanten erhöht ($p < 0.001$). Hierbei war die Konzentration des HDL (*high density lipoprotein*), das überschüssiges Cholesterin aus der Peripherie zurück zur Leber transportiert, wo es abgebaut werden kann, in den Mutanten auf C57BL/6J- und C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrund signifikant erhöht. ($p < 0.01$ bzw. $p < 0.001$). Die Blutkonzentration des LDL (*low density lipoprotein*), das Cholesterin von der Leber zu den Geweben transportiert, ist in keiner Gruppe verändert und auch in der Lipasekonzentration konnten keine Veränderungen gefunden werden.

Die Konzentration der freien Fettsäuren (*nonesterified fatty acids*, NEFA) war bei den Mutanten der Mäuse auf C57BL/6J-Hintergrund signifikant höher als bei den Kontrollen ($p < 0.05$), während bei Mäusen auf gemischtem C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrund kein Unterschied nachgewiesen werden konnte.

Die Konzentration der Alanin-Aminotransferase (ALT) stellt einen Marker dar, der weitgehend spezifisch für Leberschäden ist. Dieser Wert ist in den Mutanten beider Gruppen signifikant erhöht ($p < 0.05$), was ein Hinweis auf eine Fettleber sein könnte. Erst bei schweren Leberschäden würde eine erhöhte Blutkonzentration der Aspartat-Aminotransferase (AST) erwartet, die jedoch auch in der Herz- und Skelettmuskulatur vorkommt und somit keinen spezifischen Marker für die Leber darstellt. Die AST-Konzentration war in keiner der Gruppen signifikant verändert.

Die Blutglukosekonzentration war bei den Mutanten auf C57BL/6J- und C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrund signifikant erhöht, was den erhöhten Glukosewert gefasteter Mäuse (vergl. Abschnitt 3.3.4) auch in diesen nicht gefasteten Mäusen bestätigte ($p < 0.001$ bzw. $p < 0.01$).

Die Konzentration der Proteinstoffwechselprodukte (Gesamtprotein, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure) war in keiner der Gruppen verändert.

Tab 20:

Blutwerte der MML HWE007 auf C57BL/6J-Hintergrund

MW \pm SEM.

<i>C57BL/6J</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 8	Weibchen n = 8	Männchen n = 5	Weibchen n = 7
Triglyzeride (mg dl ⁻¹)	108.90 \pm 22.71	148.68 \pm 27.12	167.84 \pm 23.30	151.97 \pm 20.95
Cholesterin (mg dl ⁻¹)	109.38 \pm 9.99	98.30 \pm 7.72	162.92 \pm 21.82	156.54 \pm 15.52
HDL (mg dl ⁻¹)	79.38 \pm 6.83	68.20 \pm 5.63	112.88 \pm 15.48	106.23 \pm 10.54
LDL (mg dl ⁻¹)	8.95 \pm 0.98	9.78 \pm 1.09	9.74 \pm 0.63	10.64 \pm 1.35
NEFA (mg dl ⁻¹)	2.97 \pm 0.36	3.73 \pm 0.32	4.06 \pm 0.22	4.22 \pm 0.26
ALT (U l ⁻¹)	31.00 \pm 8.85	18.50 \pm 1.45	40.00 \pm 4.73	37.43 \pm 6.91
AST (U l ⁻¹)	28.50 \pm 3.44	29.50 \pm 3.04	28.00 \pm 2.61	32.67 \pm 3.13
Blutglukosekonzentration (mg dl ⁻¹)	200.73 \pm 8.44	180.63 \pm 4.88	258.08 \pm 17.48	233.09 \pm 17.47

Tab 20:**Blutwerte der MML HWE007 auf C3HeB/FeJxBalb/cJ-Hintergrund**MW \pm SEM.

<i>C3HeB/FeJxBalb/cJ</i>	HWE007 Kontrollen		HWE007 Mutanten	
	Männchen n = 7	Weibchen n = 8	Männchen n = 4	Weibchen n = 6
Triglyzeride (mg dl ⁻¹)	259.70 \pm 29.12	267.40 \pm 42.18	293.75 \pm 40.20	262.10 \pm 47.56
Cholesterin (mg dl ⁻¹)	140.06 \pm 9.41	118.44 \pm 8.79	153.6 \pm 6.59	164.00 \pm 14.10
HDL (mg dl ⁻¹)	100.06 \pm 6.54	81.68 \pm 8.30	109.35 \pm 6.57	113.77 \pm 8.71
LDL (mg dl ⁻¹)	11.71 \pm 8.86	10.00 \pm 0.48	12.63 \pm 1.21	12.17 \pm 0.63
NEFA (mg dl ⁻¹)	3.56 \pm 0.23	3.30 \pm 0.23	3.56 \pm 0.17	3.31 \pm 0.39
ALT (U l ⁻¹)	29.33 \pm 3.01	28.8 \pm 5.43	35.50 \pm 4.99	48.33 \pm 4.77
AST (U l ⁻¹)	49.60 \pm 4.01	51.5 \pm 4.99	58.80 \pm 3.26	72.50 \pm 5.90
Blutglukosekonzentration (mg dl ⁻¹)	104.97 \pm 12.49	110.16 \pm 6.79	146.9 \pm 16.14	146.97 \pm 11.81

4 Diskussion

Das 21. Jahrhundert wurde mit dem erfolgreichen Abschluss des Humanen Genomprojekts, und somit der Entschlüsselung des menschlichen Genoms, eingeläutet (Lander et al. 2001; Venter et al. 2001). Seitdem besteht die neue Herausforderung der biomedizinischen Forschung in der Aufklärung der Funktion der Gene. Dank der Möglichkeit in nahezu jedem Gen der Maus mit gentechnischen Methoden Mutationen erzeugen zu können, und der gleichzeitigen physiologischen und biochemischen Ähnlichkeit zum Menschen, wurde das Säugetier Maus schnell zum meistgenutzten Tiermodell zur funktionalen Aufklärung des Genoms (O'Brien und Woychick 2003). Zwischen der Herstellung einer großen Menge von Mausmutantenlinien (MLL) und der Aufklärung der Funktion des jeweiligen mutierten Gens besteht ein Engpass, der auf einem Mangel einer verlässlichen und umfassenden Phänotypisierung von Mausmutantenlinien basiert. Um diesen Engpass überwinden zu können, wurde mit der *GMC* innerhalb des Nationalen Genomforschungsnetzwerks (NGFN) ein neuartiges und einzigartiges Mausphänotypisierungszentrum etabliert, das der wissenschaftlichen Gemeinschaft die Möglichkeit bietet, MML auf einem hohen Qualitätsstandart phänotypisieren zu lassen (Gailus Durner et al. 2005).

Als Modul der *GMC* bestand die Aufgabe des metabolischen Screens darin, einen Versuchsaufbau zu etablieren, der eine systematische, standardisierte und umfassende metabolische Phänotypisierung von Mausmodellen, die auf unterschiedlichen Hintergründen und mittels verschiedener gentechnischer Methoden hergestellt wurden, ermöglicht.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Phänotypisierungsdaten von 80 Mausmutantenlinien und 6 Inzuchtlinien im Gesamtüberblick ausgewertet, um Leitlinien für die metabolische Charakterisierung zu entwickeln.

Die Diskussion gliedert sich in drei Abschnitte. Der erste Teil widmet sich der primären phänotypischen Charakterisierung von 6 Inzuchtlinien: Ist der Primärscreen des metabolischen Labors geeignet phänotypischen Unterschiede zwischen den Inzuchtlinien festzustellen? In welchen metabolischen Parametern unterscheiden sich die Inzuchtlinien?

Im zweiten Teil wird die primäre Phänotypisierung von 80 MML besprochen: Konnten neue metabolische Phänotypen gefunden und bereits bekannte Phänotypen bestätigt werden? Aus welchen Parametern setzten sich diese Phänotypen zusammen? Welches

Futterreduktionsregime (40 % vs. 100 %) ist zur Detektion von Phänotypen das geeignetere?

Im dritten Teil wird die umfassende metabolische Charakterisierung der MML HWE007 diskutiert im Rahmen derer, neben den Methoden des *Primärscreens*, auch die Folgeuntersuchungen des metabolischen Screens gezeigt werden: Worin unterscheiden sich Kontrollen und Mutanten? Wie lassen sich diese Unterschiede erklären?

4.1 Die Inzuchtlinien: Eine metabolische Charakterisierung als Basis einer erfolgreichen Phänotypisierung von Mausmutantenlinien

Die moderne Mausgenetik begann 1902, als William Ernest Castle in seinem Labor an der Harvard Universität die ersten systematischen Studien der genetischen Variation und Vererbung an Mäusen durchführte (Snell und Reed 1993). Castle und seine Studenten, zu denen auch Clarence C. Little gehörte, erkannten den Wert homozygoter Mäuse für genetische Studien und etablierten durch die Verpaarung von Geschwistertieren 1909 die ersten Inzuchtstämme. Der erste, und somit älteste Inzuchtstamm, der aus diesen Verpaarungen hervorging, war der DBA-Stamm, dessen Name sich von seinen Mutanten Allelen *dilute* (*d*), *brown* (*b*) und *non-agouti* (*a*) ableitet.

Der Leitfaden zur Erstellung von Inzuchtlinien, der erstmals in 1952 publiziert wurde, bezeichnet eine Mauslinie als Inzuchtlinie, wenn für mindestens 20 Generationen Geschwisterverpaarungen durchgeführt wurden. Ab der zwanzigsten Generation sind die Mäuse in nahezu 99 % ihrer Loci identisch (Davisson 1996).

Bis zum heutigen Tag wurden über 450 Inzuchtlinien beschrieben, die eine große Menge verschiedener Geno- und Phänotypen für die biomedizinische Forschung liefern. Es ist jedoch nicht nur die genetische Gleichheit innerhalb der Inzuchtlinien, sondern auch die Verschiedenheit zwischen den Linien, die die Inzuchtlinien für die Forschung interessant macht. Vergleichsstudien einzelner Inzuchtlinien zeigten beispielsweise deutliche Unterschiede in klinisch-chemischen, Verhaltens- oder Stoffwechselfparametern (West et al. 1995; Capeless und Whitney 1995; Crawley et al. 1997; Mattson 2001; Smith et al. 2000; Svenson et al. 2007; Champy et al. 2008).

Die Bandbreite der genetischen und phänotypischen Unterschiede zwischen den einzelnen Inzuchtlinien wird oft unterschätzt, da zumeist nur eine geringe Anzahl von In-

zuchtlinien für die jeweiligen Experimente herangezogen wird. Svenson et al. (2007) verglichen 43 Inzuchtlinien miteinander und zeigten, dass die genetische und phänotypische Variation der Inzuchtlinien die Variation innerhalb der menschlichen Bevölkerung widerspiegelt.

Vor dem Hintergrund der stetig ansteigenden Zahl von Mausmodellen gewinnt das Verständnis der Physiologie 'normaler' Mäuse und die Kenntnis der Unterschiede zwischen den Inzuchtlinien an Bedeutung, da dieses Wissen die Grundlage einer erfolgreichen Phänotypisierung von MML bildet und bei der Durchführung von Experimenten berücksichtigt werden muss. Ein Beispiel hierfür bietet die Linie C3HeB/FeJ, die einen genetischen Defekt aufweist, der bei adulten Mäusen zu einer Regeneration der Retina führt (Pittler und Baehr 1991; Chang et al. 2002) und demzufolge diese Linie für Untersuchungen des Verhaltens, die eine unbeeinträchtigte Sicht voraussetzen, ungeeignet macht. C57BL/6J-Mäuse werden mit fortschreitendem Alter gehörlos (Zettel et al. 1997) und sind daher beispielsweise nicht für eine Untersuchung des akustischen Schreckreflexes geeignet. Die Verschiedenheit der Inzuchtlinien wird auch im Hinblick auf diätinduzierte Adipositas deutlich. Der Vergleich anfälliger AKR/J-Mäuse mit resistenten SWR/J-Mäusen ist ein häufig publiziertes Beispiel für die Aufklärung der Mechanismen, die bei einer fettreichen Diät zu einer Zunahme der Fettmasse führen bzw. dieses verhindern (West et al. 1995, Prpic et al. 2002).

Ein Beispiel für die Auswirkung des genetischen Hintergrundes auf den Phänotyp einer Mutation stellen die Inzuchtlinien C57BL6/J und C57BLKS/J dar. C57BL/6J-Mäuse mit einer Mutation im *obesity*-Gen entwickeln einen milden Diabetes, während C57BLKS/J-Mäuse als Träger derselben Mutation einen schwerwiegenden Diabetes aufweisen (Hummel 1966 und 1972). Die verschieden starken Ausprägungen des Phänotyps aufgrund der verwendeten Hintergrundlinie tragen zur Identifikation der Einflussfaktoren für einen adipositasinduzierten Diabetes bei.

Bei der Charakterisierung genetisch veränderter Mauslinien muss demzufolge nicht nur das veränderte Gen, sondern auch der jeweilige genetische Hintergrund einer MML berücksichtigt werden (Linder 2006; Yoshiki und Moriwaki 2006; Champy et al. 2008).

Für die vorliegende Arbeit wurden sechs Inzuchtlinien (129/SvJ, AKR/J, Balb/cJ, C3HeB/FeJ, C57BL/6J, SWR/J) ausgewählt, um die linienspezifischen Besonderheiten im Hinblick auf metabolische Parameter darzustellen und die Eignung der Methoden des *Primärscreens* zur Identifikation metabolischer Phänotypen zu belegen. Alle sechs

Linien entstammen den *Jackson Laboratories* und wurden in der *GMC* weiter gezüchtet.

4.1.1 Inzuchtlinien unter *ad libitum* Bedingungen

4.1.1.1 Körpergewichte

Die Tatsache, dass sich die Inzuchtlinien zum Teil sehr deutlich im Körpergewicht voneinander unterscheiden, wurde bereits im Rahmen einiger Studien (z.B. Bachmanov et al. 2001; Champy et al. 2008) deutlich. Auch im metabolischen *Primärscreen* zeigte sich schon anhand des Körpergewichts eine große Varianz zwischen den untersuchten Linien. Der Gewichtsunterschied zwischen den leichtesten (SWR/J und C57BL/6J) und den schwersten (AKR/J und C3HeB/FeJ) Linien betrug bei den Männchen 27 % und bei Weibchen 38 %. Weiterhin waren bei allen sechs Linien die Männchen schwerer als die Weibchen, allerdings zeigten die beiden schweren Linien einen geringeren geschlechtsspezifischen Gewichtsunterschied als die vier leichteren Linien.

4.1.1.2 Absolutwerte der metabolisierten Energie

Die Beantwortung der Frage, ob die sechs Inzuchtlinien eine vergleichbare Menge an Energie metabolisierten, wurde durch die Varianz der Körpergewichte erschwert, da die metabolisierte Energie mit dem Körpergewicht positiv korreliert war und demzufolge schwerer Mäuse höhere Absolutwerte aufwiesen als leichtere.

Die einfachste Vergleichsmöglichkeit bestand bei Mäusen gleichen Körpergewichts. Dies traf für AKR/J- und C3HeB/FeJ- bzw. C57BL/6J- und SWR/J-Mäuse zu. Hier fiel auf, dass C3HeB/FeJ-Mäuse mehr Energie metabolisierten als die gleichschweren AKR/J-Mäuse und dass dieser Unterschied bei den Weibchen größer war als bei den männlichen Mäusen. Der Vergleich der Linien C57BL/6J und SWR/J zeigte, dass SWR/J-Männchen mehr Energie metabolisierten als die gleichschweren C57BL/6J-Männchen, wohingegen bei den Weibchen kein Unterschied zu verzeichnen war. Mäuse

der Linien C3HeB/FeJ bzw. SWR/J haben demzufolge einen höheren Energiebedarf als Mäuse der Linien AKR/J bzw. C57BL/6J.

Ein Vergleich der metabolisierten Energie der Mäuse unterschiedlichen Körpergewichts gestaltete sich problematisch, da die Absolutwerte hierfür aufgrund der Korrelation mit dem Körpergewicht, nur bedingt geeignet waren.

4.1.1.3 Statistische Verfahren zum Vergleich körpergewichtsabhängiger Parameter

Die häufig angewandte Methode der Berechnung einer Ratio zum Vergleich physiologischer Parameter von Mäusen mit unterschiedlichem Körpergewicht trägt das Risiko einer Fehlinterpretation in sich. Bei der Berechnung einer solchen Ratio wird vorausgesetzt, dass die physiologische Größe mit dem Körpergewicht proportional ansteigt (Allison et al. 1995). Diese Voraussetzung ist erfüllt, wenn der Zusammenhang in einem linearen Koordinatensystem durch eine Gerade beschrieben werden kann, die beide Achsen im Nullpunkt schneidet. Ein solcher isometrischer Zusammenhang ist in der Natur jedoch nur selten gegeben. Physiologische Parameter, die mit dem Körpergewicht in Zusammenhang stehen, weisen meist einen allometrischen Zusammenhang auf, der in einem doppelt logarithmischen Koordinatensystem in einer Geraden resultiert, die die y-Achse nicht in ihrem Nullpunkt schneidet. In Fall eines allometrischen Zusammenhangs kann der Effekt des Körpergewichts durch das Bilden einer Ratio nicht eliminiert werden, was durch ein Auftragen der berechneten Ratio gegen das Körpergewicht und einer daraus resultierenden erneuten Korrelation belegt werden kann. Die Stärke der Fehlinterpretation durch die Berechnung einer Ratio hängt von dem Schnittpunkt mit der y-Achse ab und wächst mit dessen Größe (Packard und Boardman 1999).

Am Beispiel der metabolisierten Energie konnte diese Problematik auch im Rahmen der vorliegenden Arbeit herausgearbeitet werden. Die metabolisierte Energie stieg mit dem Körpergewicht an (Abb. 16 a, Abschnitt 3.1.2) und die Regressionsgerade schnitt die y-Achse nicht im Nullpunkt, so dass die Berechnung der Ratio $E_{\text{met}} \cdot \text{BM}^{-1}$ zu einer erneuten (negativen) Korrelation mit dem Körpergewicht führte. Weiterhin zeigt Abbildung 14 (Abschnitt 3.1.2), dass C3HeB/FeJ-Mäuse bei gleicher Körpermasse mehr Energie metabolisieren würden als C57BL/6J-Mäuse. Wurde jedoch eine Standardisierung pro Gramm Körpergewicht durch die Berechnung der Ratio vorgenommen, so führten die

berechneten Werte zu der falschen Aussage, dass C57BL/6J-Mäuse pro Gramm Körpermasse mehr Energie metabolisierten als C3HeB/FeJ-Mäuse.

Auch die Normalisierung physiologischer Parameter nach Literaturwerten ist nicht ratsam, da die dafür genutzten intraspezifischen Masseexponenten teilweise deutlich von den interspezifischen abweichen (Feldman und McMahon 1983; Lindstedt und Schaeffer 2002; Burness 2002; White and Seymour 2005; Glazier 2005).

Um den Massenexponenten zu ermitteln lässt sich die Geradengleichung $y = a \cdot BM^b$ durch log-log Transformationen in linearisierter Form durch die Geradengleichung $\log(y) = \log(a) + b \cdot \log(BM)$ darstellen. Der Massenexponent (b) entspricht der Steigung der linearisierten Exponentialfunktion und der Massenkoeffizient (a) dem Schnittpunkt der y -Achse. Im Falle der metabolisierten Energie der Inzuchtlinien lautet die Gleichung der Regressionsgeraden $\log(E_{\text{met}}) = 2.274 + 0.320 \cdot \log(BM)$. Der Massenexponent für die metabolisierte Energie lautet 0.32 und weicht demnach deutlich von dem publizierten Masseexponenten 0.75 (Kleiber 1961) 0.66 (White and Seymour 2003) ab. Zur Thematik des statistischen Vergleichs allometrischer Parameter verschieden schwerer Mäuse wurden in den letzten Jahren vermehrt Studien publiziert, in denen ein solcher Vergleich mittels ANCOVA (*analysis of covariance*, Kovarianzanalyse) durchgeführt wurde (Packard und Boardman 1999; Meyer et al. 2004; Arch et al. 2006; Lighton 2008). Die ANCOVA basiert auf der Vereinigung zweier statistischer Methoden: der Regressionsanalyse und der ANOVA. Die Regression entfernt den Effekt des Körpergewichts aus der abhängigen Variablen und die ANOVA liefert die statistische Analyse der adjustierten Daten. Die im Zuge der ANCOVA ermittelten *LSM* (*least square means*) stellen die metabolisierte Energie ohne den Einfluss des Körpergewichts dar und bieten die Möglichkeit eines Vergleichs der körpergewichtsbereinigten Variablen. Die Voraussetzung für die gültige Durchführung einer ANCOVA ist jedoch eine Korrelation von abhängiger und unabhängiger Variable sowie ein paralleler Verlauf der Regressionsgeraden der zu vergleichenden Gruppen (hier: Genotypen). Diese Voraussetzungen wurden durch die im metabolischen *Screen* erhobenen Daten nicht erfüllt, so dass die statistische Analyse körpergewichtsabhängiger Parameter mittels ANCOVA nicht durchgeführt werden konnte. Ein weiteres statistisches Verfahren zum Vergleich körpergewichtsabhängiger Parameter bietet eine multiple Regressionsanalyse. Die Voraussetzungen für die gültige Durchführung dieses Verfahrens sind die Normalverteilung der Daten und das Nichtvorhandensein einer Multikollinearität der unabhängigen Variablen, das heißt die unabhängigen Variablen durften untereinander keine starke Korrela-

tion aufweisen. Die Voraussetzungen der multiplen Regressionsanalyse wurden erfüllt, so dass entschieden wurde einen statistischen Vergleich der normalisierten metabolisierten Energie durchzuführen.

4.1.1.4 Metabolisierte Energie unter Berücksichtigung der Körpergewichtsunterschiede

Der zu Beginn hergeleitete vergleichsweise hohe Betrag metabolisierter Energie der C3HeB/FeJ- bzw. SWR/J-Mäuse im Gegensatz zu den AKR/J- bzw. C57BL/6J-Mäusen konnte durch den statistischen Vergleich der auf das Körpergewicht normalisierten metabolischen Energie bestätigt werden. Weiterhin metabolisierten Mäuse der Linie C3HeB/FeJ mehr Energie als C57BL/6J-Mäuse. Schwere Mäuse metabolisierten nicht systematisch mehr Energie als leichte. Folglich stellt auch der Parameter metabolisierte Energie ein Merkmal dar in dem sich die Inzuchtlinien voneinander unterscheiden.

Ein weiteres Charakteristikum der Inzuchtlinien im Zusammenhang mit der Energieaufnahme war in der unterschiedlich großen Effizienz in Bezug auf die Futtermittelverwertung zu finden. 129SvJ-Mäuse metabolisierten 85 % der mit dem Futter aufgenommenen Energie wohingegen SWR/J-Mäuse nur 78 % der Energie nutzten. Diese vergleichsweise niedrige Assimilationseffizienz der SWR/J war hauptsächlich auf eine verhältnismäßig hohe Kotproduktion in Bezug auf die aufgenommene Futtermenge zurückzuführen. Dies weist darauf hin, dass bei SWR/J-Mäusen die Nahrungsresorption aus dem Darm eingeschränkt sein könnte. Eine Erklärungsmöglichkeit hierfür könnte beispielsweise in einer vergleichsweise geringeren Darmlänge, einer erhöhten Motilität des Darms und daraus resultierendem kürzeren Verbleib des Chymus im Darm, einer veränderten Enzymsekretion oder eines eingeschränkten Transports der Abbauprodukte aus dem Darm in den Organismus liefern.

4.1.1.5 Die Körpertemperatur als Maß der Thermogenese

Die Vergleiche der Absolutwerte der gleichschweren Linien, aber auch die beschriebenen unterschiedlich hohen Werte der körpergewichtsbereinigten metabolisierten Energie warfen die Frage auf, ob der Energieverbrauch der Mäuse in gleichem Maße variierte.

Eine direkte Antwort hierauf konnte im Rahmen des *Primärscreens* nicht gegeben werden, da die Bestimmung des Energieverbrauchs aus Zeit- und Kapazitätsgründen nicht Teil des *Primärscreens* sein konnte. Trotzdem konnte die Frage nach einer möglichen linienspezifischen Varianz des Energieverbrauchs zumindest tendenziell beantwortet werden, indem über die rektale Körpertemperatur einen Hinweis auf die Thermogenese und somit auf den Energieumsatz der Mäuse geliefert werden konnte. Eine Körpertemperaturabsenkung von 1 °C verringert den Gradienten zwischen Körper- und Umgebungstemperatur, so dass eine niedrigere Thermogeneseleistung nötig wird. Insgesamt birgt eine um 1 °C niedrigere Körpertemperatur ein Energiesparpotential von 5 – 10 % des BMR (Klaus et al. 1998).

Ein Blick auf die erfassten rektalen Körpertemperaturwerte der Inzuchtlinien zeigte, dass die einzelnen Linien auch in diesem Parameter signifikante Unterschiede aufwiesen. So betrug die Differenz zwischen niedrigster (C3HeB/FeJ) und höchster (SWR/J) Körpertemperatur 0.6 °C. In allen Linien zeigten die Weibchen eine höhere Körpertemperatur als die Männchen. SWR/J-Mäuse lieferten durch eine vergleichsweise höhere Körpertemperatur einen Hinweis auf einen erhöhten Energieverbrauch, den auch Storer et al. (1967) anhand einer hohen Stoffwechselrate zeigen konnten. Gemeinsam mit der großen Menge metabolisierter Energie und der niedrigen Assimilationseffizienz der Mäuse liefert der hohe Energieverbrauch der SWR/J folglich einen Hinweis auf eine ineffiziente Nutzung der aufgenommenen Energie. Im Gegensatz dazu zeigten AKR/J-Mäuse eine durchschnittliche Körpertemperatur, die, gemeinsam mit dem sehr niedrigen Betrag metabolisierter Energie bei vergleichsweise hohem Körpergewicht, eine effiziente Nutzung der aufgenommenen Energie belegt. Diese Annahme wird durch eine niedrige Stoffwechselrate der AKR/J-Mäuse unterstützt (Storer et al. 1967). AKR/J sind demnach ein Beispiel für die „Hypothese des sparsamen Genotyps“ (*Thrifty-genotype hypothesis*; Neel 1962; Swinburn 1996; Sharma 1997), nach der eine maximale metabolische Effizienz von Vorteil ist, wenn Nahrung knapp und somit Fettreserven überlebenswichtig sind, in Zeiten des Überflusses jedoch eine genetische Prädisposition für Übergewicht darstellt.

C3HeB/FeJ-Mäuse zeigten die niedrigste Körpertemperatur. Im Kontext mit der vergleichsweise hohen Menge metabolisierter Energie weist dies auf einen erhöhten Energiebedarf der C3HeB/FeJ-Mäuse hin, der nicht durch die Thermogenese erklärt wird.

129/SvJ- und Balb/cJ-Mäuse verhalten sich sowohl in Anbetracht ihrer rektalen Körpertemperatur als auch des Betrags der metabolisierten Energie unauffällig.

4.1.1.6 Die Varianz innerhalb der Inzuchtlinien

Die Inzuchtlinien gelten als isogen, folglich sollte die Varianz innerhalb der einzelnen Linien gering sein. Die Berechnung des Variationskoeffizienten zeigte, dass die Parameter Körpergewicht und Körpertemperatur innerhalb der einzelnen Linien eine geringe Varianz zeigten, während die metabolisierte Energie innerhalb der einzelnen Linien stark variierte. Die geringste Varianz zeigten in diesem Parameter die Linien mit der höchsten Stichprobengröße: C57BL/6J und C3HeB/FeJ.

Dass die Vergleichbarkeit von Inzuchtlinien auch mit den Haltungsbedingungen zusammenhängt (z.B. Champy et al. 2004), konnte auch innerhalb der GMC anhand von zwei Experimenten gezeigt werden, die die IVC-Käfighaltung mit der konventionellen Käfighaltung verglichen. Kallnik et al. (2007) beschrieben die unterschiedlichen Testergebnisse von C57BL/6J- und C3HeB/FeJ-Männchen in Bezug auf das Verhalten, die auf die unterschiedlichen Haltungsbedingungen zurückzuführen waren, während Elvert et al. (in Vorbereitung) die käfigtypbedingten Auswirkungen auf die Futteraufnahme und die Körperzusammensetzung der selben Tiere beschrieben.

4.1.2 Inzuchtlinien unter Futterreduktion

Zusätzlich zu den unter *ad libitum* Bedingungen erhobenen Parametern beinhaltete der Primärscreen ein *Challenge*-Experiment. Im Rahmen dieses Experiments bekamen die Mäuse für die Dauer einer Woche täglich eine Futterportion, die anhand des zuvor gemessenen Futtermittelsverbrauchs für jede Maus individuell um 40 % reduziert wurde. Auf diese Weise konnte die Reaktion auf die verminderte Energiezufuhr bestimmt werden.

Wird eine Maus mit einer Energieknappheit konfrontiert, so kann sie dieses Defizit in der Energieaufnahme auf verschiedene Weise kompensieren. Um die Energieversorgung des Körpers zu gewährleisten müssen Energiereserven mobilisiert werden, so dass die Maus an Körpergewicht verliert. Eine weitere Anpassungsstrategie besteht darin, dass negative Energiebudget auszugleichen, indem die Maus ihren Energieverbrauch und somit die Stoffwechselrate senkt. Eine Absenkung der Stoffwechselrate würde über ein Absinken der Körpertemperatur indirekt feststellbar sein. Die Maus muss allerdings

nicht entweder mit einer Reduktion der Körpermasse oder einem Absenken des Energieverbrauchs auf die Energieknappheit reagieren. Vielmehr hat sie die Möglichkeit beide Strategien zu kombinieren und eine Körpergewichtsreduktion mit einer Absenkung des Energieverbrauchs zu verbinden (Abb. 22, Abschnitt 3.1.4), um so das entstandene Energiedefizit optimal kompensieren zu können.

Die sechs Inzuchtlinien reagierten in verschiedener Weise auf die Konfrontation mit einer reduzierten Energieversorgung.

Die Linien 129/SvJ, C57BL/6J und SWR/J zeigten eine geringere Reduktion des Körpergewichts als die Linien AKR/J, Balb/cJ und C3HeB/FeJ. Ein Blick auf die Körpertemperatur der Mäuse zeigte, dass diejenigen Linien, die mit einer geringeren Reduktion des Körpergewichts reagierten (129/SvJ, C57BL/6J und SWR/J), ein stärkeres Absinken der Körpertemperatur aufwiesen. Im Gegensatz dazu zeigten Mäuse mit einer stärkeren Körpergewichtsreduktion (AKR/J, Balb/cJ und C3HeB/FeJ) ein vergleichsweise weniger starkes Absinken der Körpertemperatur. In diesem Zusammenhang wurde eine Linie besonders auffällig: Balb/cJ-Männchen hatten den stärksten Körpergewichtsverlust (24 %) zu verzeichnen. Die Körpertemperatur sank jedoch nicht nur erwartungsgemäß wenig sondern stieg sogar an, so dass sie durchschnittlich um 0.5 °C höher war als unter *ad libitum* Bedingungen. Eine Erklärungsmöglichkeit für die erhöhte Körpertemperatur lässt sich am Beispiel von Ratten finden, die unter Futterreduktion hyperaktiv werden (Koubi et al. 1991; Exner et al. 2000). Da eine gesteigerte Aktivität mit einer erhöhten Körpertemperatur einhergeht (Kent et al. 1991; Golombek 1993; Weinert und Waterhouse 1998) könnte eine hungerinduzierte Hyperaktivität der Grund für den Anstieg in der Körpertemperatur der Balb/cJ-Männchen sein.

Insgesamt zeigten die Inzuchtlinien auch in der Reaktion auf die Futterreduktion linien-spezifische Unterschiede. Die Durchführung des *Challenge*-Experiments erwies sich als sinnvoll, da hier mit den Balb/cJ-Mäusen eine Linie auffällig wurde, die unter *ad libitum* Bedingungen keine Besonderheiten erkennen ließ.

4.2 Die Mausmutantenlinien: Die Suche nach metabolischen Phänotypen im Rahmen der primären Phänotypisierung des metabolischen Screens

Viele der vor allem in den Industrieländern häufig auftretenden Erkrankungen basieren auf Funktionsstörungen der Stoffwechselwege. Übergewicht bis hin zur Adipositas, Insulinresistenz, Diabetes und Arteriosklerose gehören hierbei zu den bekanntesten Krankheitsbildern in der Bevölkerung von Industrieländern. Auch Anorexie und Kachexie (beispielsweise durch Tumorerkrankungen bedingt) gehören zu den Erkrankungen, deren Ursache in der krankhaften Veränderung stoffwechselphysiologischer Parameter liegt. Neurologische Erkrankungen, die in der Funktionsstörung der mitochondrialen Atmungskette begründet liegen (z.B. mitochondriale Myopathie oder Dystonie) sind für den metabolischen Screen ebenfalls von Interesse. Die Charakterisierung von Mausmodellen mit Störungen in der Körpergewichtsregulation und/oder dem Energiehaushalt von Mausmutantenlinien ist das Ziel des metabolischen Labors. Diese Störungen führen zu einer unausgeglichene Energiebilanz. Ist die Energiebilanz positiv (d.h. übersteigt die Energieaufnahme langfristig den Energieverbrauch), so wird die Maus übergewichtig. Ist die Energiebilanz negativ (d.h. übersteigt der Energieverbrauch langfristig die Energieaufnahme), so wird die Maus untergewichtig (Spiegelman und Flier 2001).

Ebenso interessant wie die Suche nach Mausmodellen, deren abweichendes Körpergewicht der Mutanten mit einer unveränderten Energieaufnahme einhergeht, ist die Suche nach MML, deren Mutanten zwar eine erhöhte bzw. erniedrigte Energieaufnahme zeigen, sich aber in ihrem Körpergewicht nicht von den Kontrollen unterscheiden.

4.2.1 Grundsätzliche Überlegungen zur zuverlässigen Detektion von Phänotypen in Mausmutantenlinien

Eine phänotypische Untersuchung ist die Analyse von sichtbaren oder messbaren Charakteristika einer Maus, die aus ihrem Genotyp und dessen Interaktion mit der Umwelt resultieren (Brown und Murray 2006). Anhand dieser Charakteristika sollen Zusammenhänge zwischen dem Genotyp und dem Phänotyp einer Mausmutantenlinie aufgedeckt werden, indem genetisch veränderte Mutanten mit ihren wildtypischen Wurfgeschwistern verglichen werden. Die Auswirkungen, die Störungen innerhalb der Stoff-

wechselwege auf den Phänotyp einer Maus haben, sind oft sehr subtil, wodurch ihre Diagnose erschwert werden kann (Argmann et al. 2006).

Die Definition des Phänotypisierungsvorgangs wirft gleich zu Beginn eine wichtige Frage auf: Wie groß muss der phänotypische Unterschied zwischen den Mutanten und ihren jeweiligen Kontrollen sein, um zuverlässig detektiert zu werden?

Die Grundvoraussetzung für eine zuverlässige Phänotypisierung besteht darin, die Variabilität der erhobenen Daten möglichst klein zu halten. Da schon geringe Unterschiede in der Tierhaltung, dem Umgang mit der Maus oder der Versuchsdurchführung zu einer Erhöhung der Datenvariabilität führen (Champy et al. 2004), verfügt die GMC über eine standardisierte Tierhaltung mit hohem Hygienestatus (Brielmeier et al. 2006) und eine standardisierte Versuchsdurchführung innerhalb der einzelnen Screens anhand von SOPs (Fuchs et al. *submitted*). Neben den genannten Umweltbedingungen liefert die Inhomogenität der genetischen Hintergründe der einzelnen MML einen großen Beitrag zur Variabilität der erhobenen Daten.

Bei einer MML, mit einem inhomogenen Hintergrund ist die Gefahr falsch-negativer Ergebnisse (d.h. ein Phänotyp wird aufgrund der hohen Datenvariabilität innerhalb der MML übersehen) größer als bei einer MML mit einem homogenen Hintergrund. Obwohl die Inhomogenität einer MML nicht ausschließlich mit der Anzahl der Rückkreuzungen auf einen bestimmten Hintergrund (z.B. C57BL/6J) zusammenhängt, gibt das Aufnahmeprotokoll der GMC (<http://www.mouseclinic.de>) vor, dass die betreffenden Mauslinien mindestens fünf Generationen auf ihren Hintergrund zurückgekreuzt werden müssen, um so die Inhomogenität innerhalb der MML so gering wie möglich zu halten. Ein weiteres Kriterium für die zuverlässige Detektion metabolischer Phänotypen ist die Stichprobengröße der untersuchten Mäuse (Meyer et al. 2007). Eines der Ziele des *Primärscreens* der GMC ist es, anhand einer möglichst kleinen Anzahl von Mäusen (Mutanten: 15 m, 15 w; Kontrollen: 15 m, 15 w) eine möglichst große Anzahl an Parametern (ca. 240) zu erheben. Anhand von 11 MML, deren Inhomogenität innerhalb der Linie verschieden stark ausgeprägt war, wurde im Rahmen des metabolischen Screens und am Beispiel des Parameters 'Energieassimilation' die optimale Stichprobengröße erörtert (Meyer et al. 2007). Abhängig von der phänotypischen Varianz und der Mittelwerte der jeweiligen Linie konnte in einer Stichprobenzahl von $n = 6$ ein Unterschied der Größenordnung 20 % festgestellt werden. Anhand einer höheren Stichprobenzahl von $n = 19$ könnten bereits Abweichungen von 10 % zwischen den Mutanten und ihren Kontrollen nachgewiesen werden. Die optimale Stichprobenzahl für den Primärscreen des metabo-

lischen Labors stellt also einen Kompromiss zwischen der Effektgröße, die detektiert werden soll, und der Durchführbarkeit des primären *Workflows* innerhalb der *GMC* dar. Während Argmann et al. (2006) eine Stichprobengröße von 10 bis 12 Mäusen pro Gruppe empfehlen, wurde für den *Primärscreen* des metabolischen Labors eine Stichprobenzahl von $n = 7$ pro Geschlecht und Genotyp gewählt, um so sowohl der Relevanz der zu detektierenden Effektgröße als auch der Eingliederung in den primären *Workflow* der *GMC* gerecht zu werden.

Der *Primärscreen* der *GMC* ist *a priori* hypothesefrei und folglich nicht darauf ausgelegt, eine konkrete Fragestellung zu beantworten. Der hohe Prozentsatz an metabolischen Phänotypen, die mittels der gewählten Stichprobengröße gefunden wurde, und die Tatsache, dass alle bereits bekannten Phänotypen bestätigt werden konnten, zeigen, dass eine Stichprobengröße von $n = 7$ für die metabolische Phänotypisierung von MML ausreichend ist.

4.2.2 Die Mausmutantenlinien unter *ad libitum* Bedingungen

4.2.2.1 Die veränderten Parameter

Das Körpergewicht der Mäuse, bzw. ein Körpergewichtsunterschied zwischen den Mutanten und Kontrollen einer MML, liefert einen ersten Hinweis auf mögliche Veränderungen im Energiehaushalt der Mäuse, die in der Mutation der MML begründet liegen. Innerhalb der primären phänotypischen Analyse der 80 MML war das Körpergewicht der Parameter in dem die meisten MML (46 %) signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen zeigten. Bei 37 % der untersuchten MML waren die Mutanten leichter und bei nur 9 % der MML schwerer als die Kontrollen. Diese innerhalb des *Primärscreens* gefundene Verteilung ist vergleichbar mit einem von Reed et al. (2008) publizierten Verhältnis der Gewichtsverteilung in *Knockout*linien. Die Autoren teilten nahezu 2000 *knockout*-MML aus der *Jackson Laboratory Mouse Genome Database (MGD)* anhand des Gewichtsverhältnisses der Mutanten zu den Kontrollen in MML mit leichteren, gleichschweren und schwereren Mutanten ein. Die Auswertung ergab, dass bei 31 % der Linien die Mutanten leichter und bei nur 3 % der Linien die Mutanten schwerer waren als die Kontrollen. In der Annahme, dass die betroffenen Gene der

MML aus der *MGD* repräsentativ für alle Gene sind, würde das bedeuten, dass weit über 6000 Gene an der Regulation des Körpergewichts beteiligt sind.

Dies lässt darauf schließen, dass Bestandteile der metabolischen Signalwege in vielen anderen Prozessen, die nicht zwangsläufig etwas mit der Körpergewichtsregulation zu tun haben, eine Rolle spielen. Werden diese Prozesse durch genetische Mutationen verändert, so wirkt sich diese Veränderung auch auf die metabolischen Signalwege aus, was am häufigsten in einer Körpergewichtsveränderung resultiert. Einige Beispiele dafür, dass Bestandteile der metabolischen Signalwege auch für andere Prozesse verantwortlich sind, wurden bereits publiziert. So sind die Orexine A und B beispielsweise in der Lage den Blutdruck und die Herzrate ansteigen zu lassen (Antunes et al. 2001). Amylin reduziert nicht nur die Nahrungsaufnahme sondern auch die Aktivität (Baldo et al. 2001) und NPY (Neuropeptid Y) kann einerseits die Nahrungsaufnahme erhöhen und andererseits das Sexualverhalten männlicher Ratten einschränken (Ammaar et al. 2000).

Auch die im Rahmen des Primärscreens analysierten MML belegen, dass Mutationen, die zunächst nicht direkt mit stoffwechselphysiologischen Signalwegen in Zusammenhang zu stehen scheinen, Einfluss auf die metabolischen Parameter haben können. Auch Mutationen, die physiologische Grundfunktionen beeinflussen, wirken sich auf den Metabolismus der Mäuse aus. EPS8 spielt beispielsweise eine Rolle bei der Remodellierung des Aktingerüsts der Zelle (Roffers-Argwal et al. 2005; Offenhäuser et al. 2006), während Nbea für die neuromuskuläre synaptische Transmission von Bedeutung ist (Wang et al. 2000; Su et al. 2004). Bei beiden Linien wurde ein metabolischer Phänotyp festgestellt.

Zur Beurteilung der Energieaufnahme der Mutanten und Kontrollen jeder MML wurden zunächst die Absolutwerte der Futteraufnahme und der metabolisierten Energie pro Tier betrachtet. Insgesamt wich der Betrag der absolut metabolisierten Energie bei den Mutanten von 16 MML von dem der Kontrollen ab. Hierbei war auffallend, dass der Großteil der Mutanten dieser Linien Gewichtsunterschiede zu den Kontrollen aufwies. Da sowohl der Futtermittelverbrauch als auch die metabolisierte Energie mit dem Körpergewicht positiv korreliert war, konnte folglich nicht ausgeschlossen werden, dass der Unterschied im Betrag der absolut metabolisierten Energie allein auf das Körpergewicht zurückzuführen war. Unter Berücksichtigung des Körpergewichts wurde auch im Fall der MML ein statistischer Vergleich des normalisierten Futtermittelverbrauchs und der normali-

sierten metabolisierten Energie der Genotypen mittels multipler Regressionsanalyse durchgeführt. Bei neun MML konnten statistische genotypische Unterschiede in der für das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie festgestellt werden.

Anhand der Körpertemperatur wurden 21 MML auffällig. Die Beurteilung der rektalen Körpertemperatur als Kriterium für die Beschreibung eines neuen metabolischen Phänotyps gestaltet sich schwierig, da bereits geringe Unterschiede von 0.3 °C (z.B. SIP-Weibchen) zu einem statistisch signifikanten Unterschied führen können. Vor allem in Fällen, bei denen die Körpertemperatur innerhalb einer MML als einziger Parameter verändert ist sind solche geringen Abweichungen oft von unklarer Relevanz für einen möglichen metabolischen Phänotyp. Zur Einschätzung der Gewichtung des Beitrags, den die Körpertemperatur zur Charakterisierung eines neuen metabolischen Phänotypen liefert sollte folglich nicht nur die Signifikanz sondern auch die Effektgröße berücksichtigt werden.

4.2.2.2 Die metabolischen Phänotypen

Bei den im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfassten 80 MML fällt auf, dass 88 % der 42 MML, die unter *ad libitum* Bedingungen einen metabolischen Phänotypen zeigten, eine Veränderung im Körpergewicht aufwiesen.

Bei 16 MML wurden zwischen den Genotypen ausschließlich Unterschiede im Körpergewicht festgestellt. Drei Linien zeigten allein einen Körpertemperaturunterschied zwischen Mutanten und Kontrollen. Bei vier MML unterschieden sich die Mutanten nur in der normalisierten metabolisierten Energie von den jeweiligen Kontrollen. Dass die Mutanten dieser Linien einen höheren bzw. niedrigeren Energiebetrag metabolisierten als die Kontrollen und trotzdem kein höheres bzw. niedrigeres Körpergewicht aufwiesen, macht sie zu interessanten metabolischen Phänotypen. Ebenso interessant sind MML, deren Mutanten im Körpergewicht eine signifikante Abweichung von den Kontrollen zeigen, ohne dass die metabolisierte Energie von der der Kontrollen abweicht oder ein Unterschied in der Körpertemperatur festgestellt werden konnte.

Auch MML, deren Phänotyp sich aus der Kombination eines vergleichsweise niedrigen Körpergewichts und einer niedrigen Körpertemperatur der Mutanten zusammensetzt, sollten detaillierteren Folgeuntersuchungen unterzogen werden. Obwohl die Mutanten dieser Linien einen mit den Kontrollen vergleichbaren Energiebetrag metabolisierten

und durch eine reduzierte Thermogenese Energie einsparen konnten, wiesen sie ein niedrigeres Körpergewicht auf, was auf einen erhöhten Energiebedarf hindeutet. Eine weitere Gruppe metabolischer Phänotypen zeigte ein niedrigeres Körpergewicht der Mutanten bei gleichzeitiger erhöhter metabolisierter Energie, was ebenfalls einen Hinweis auf einen erhöhten Energiebedarf liefert. Auch MLL deren Mutanten ein höheres Körpergewicht aufwiesen als die Kontrollen, obwohl sie einen vergleichsweise kleineren Energiebetrag metabolisierten, stellen einen sehr interessanten metabolischen Phänotyp dar. Diese MML lassen auf einen vergleichsweise niedrigen Energiebedarf schließen.

4.2.3 *Challenge*-Experimente: 40 % oder 100 % - ein Vergleich der beiden Futterreduktionsregime

4.2.3.1 Die Bedeutung von *Challenge*-Experimenten

Challenge-Experimente werden angewandt, um bei den zu untersuchenden Tieren Reaktionen zu provozieren, die sie unter normalen Haltungs- und Messbedingungen nicht zeigen würden. Für *Challenge*-Experimente gibt es in der Literatur eine Reihe von Beispielen. Anhand einer Kälte-*Challenge*, bei der die Tiere für einen definierten Zeitraum einer Kältebelastung ausgesetzt werden, kann beispielsweise die thermoregulatorische Kapazität untersucht werden (Picard et al. 2002; Klingenspor 2003). Eine *Challenge* mit fettreichem Futter kann eine Prädisposition für diätinduzierte Adipositas aufklären (West et al. 1995; Prpic et al. 2002) und die Gegenwart eines Laufrads kann hungerinduzierte Hyperaktivität auslösen (Exner et al. 2000). Auch ein Glukosetoleranztest stellt eine *Challenge* in der Form dar, dass die Mäuse mit einer erhöhten Glukosekonzentration konfrontiert werden, um eventuelle Störungen der Glukoseclearance feststellen zu können (Kaku et al. 1988). Eine Kürzung des Nahrungsangebots, wie sie im Rahmen des metabolischen *Screens* durchgeführt wurde, provoziert eine Reaktion anhand derer beurteilt werden kann, ob die Maus ein Defizit in der Energieversorgung kompensieren kann (Hambly und Speakman 2005).

4.2.3.2 Die Definition des Begriffs `Futterreduktion`

Der Begriff `Futterreduktion` beinhaltet die Tatsache, dass die Mäuse mit einer niedrigeren Energiezufuhr versorgt werden, als sie unter *ad libitum* Bedingungen zu sich nehmen würden. Dabei stellt sich zunächst die Frage, ob Mäuse, die unter Laborbedingungen gehalten werden, und somit täglich unbegrenzten Zugang zu ihrem Futter haben, mehr Energie zu sich nehmen als sie es unter natürlichen Bedingungen tun würden. Würde dies zutreffen, so würde eine `Futterreduktion` im eigentlichen Sinne kein Energiedefizit, sondern vielmehr eine Annäherung an eine normale Futteraufnahme bedeuten. Austad und Kristan (2003) konnten diese Frage beantworten, indem sie die tägliche Energieaufnahme von Labormäusen mit der von Wildmäusen verglichen und zeigen konnten, dass, unter Berücksichtigung des Körpergewichts, kein Unterschied zwischen den in Gefangenschaft gehaltenen und den in freier Wildbahn lebenden Mäusen besteht. Eine `Futterreduktion` stellt die Labormaus somit tatsächlich vor die Herausforderung eines Defizits in der Energieversorgung.

4.2.3.3 Die chronische Futterreduktion

Es ist bereits seit über 70 Jahren (McCay et al. 1935) bekannt, dass eine verminderte Energiezufuhr, die keine Mangelernährung beispielsweise in der Versorgung mit Vitaminen und Mineralstoffen darstellt, die Lebenserwartung steigern kann. Im Rahmen dieses Ansatzes sind zahlreiche Studien veröffentlicht worden, die sich mit der kalorischen Restriktion am Beispiel verschiedener Spezies auseinandersetzen (Weindruch 1996; DeLany et al. 1999; Ramsey et al. 2000; Lane et al. 2001; Roth et al. 2001; Mahoney et al. 2006). Obwohl der Zusammenhang zwischen verminderter Energiezufuhr und einer verlängerten Lebensspanne noch nicht endgültig geklärt ist, vermittelt die Literatur zu diesem Thema einen Einblick in die Anpassungsvorgänge, die mit einer verminderten Energiezufuhr zusammenhängen.

So konnte gezeigt werden, dass C57BL/6J-Mäuse, die für die Dauer von 3 Wochen um 40 % futterreduziert wurden, einen Körpergewichtsverlust von 15 % aufwiesen (Mahoney et al. 2006). Am Beispiel der Arbeit von Hambly und Speakman (2005) wurde deutlich, dass Mäuse sich sehr gut an ein moderates Energiedefizit anpassen können. Über einen Zeitraum von 50 Tagen wurden Mäuse einer 20 %igen Futterreduktion un-

terzogen. Die Mäuse reagierten auf das Energiedefizit mit einer durchschnittlichen Absenkung des Ruhestoffwechsels um 22 % und einer um 75 % reduzierten Aktivität. Aufgrund dieser Sparmaßnahmen konnten die Mäuse ihr Körpergewicht nicht nur verteidigen sondern nahmen durchschnittlich sogar um 2.7 g zu.

Eine Absenkung des Ruhestoffwechsels und Verminderung der Aktivität zur Erhaltung des Körpergewichts bei reduzierter Energiezufuhr wurden auch beim Menschen gefunden (Martin et al. 2007).

Die Ergebnisse der einwöchigen 40 %igen Futterreduktion innerhalb des metabolischen *Primärscreens* zeigen, dass die gemessenen 35 MML in dieser Zeit durchschnittlich 5.2 g Körpermassen verloren. Gleichzeitig sank die Körpertemperatur der Mäuse im Mittel um 1.3 °C.

Zur Beurteilung der Auswirkungen der Futterreduktion auf das Körpergewicht und die Körpertemperatur der MML sind verschiedene Herangehensweisen möglich.

Einen ersten Überblick liefert die Beantwortung der Fragestellung nach dem Fortbestehen der bereits unter *ad libitum* Bedingungen gefundenen Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen: Sind die Differenzen in den Parametern Körpergewicht und Körpertemperatur auch am Ende der Futterreduktionsphase noch feststellbar? Oder zeigen MML die unter *ad libitum* Bedingungen keine Abweichungen zwischen den Genotypen aufwiesen am Ende des *Challenge*-Experiments signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen?

Hierbei fällt zunächst auf, dass die unter *ad libitum* Bedingungen bestehenden Körpergewichtsunterschiede einzelner MML am Ende der Futterreduktionsphase nicht mehr feststellbar sind. Auch der Körpertemperaturunterschied der Genotypen einzelner MML konnte am Ende des *Challenge*-Experiments nicht mehr nachgewiesen werden. Durch das Futterreduktions-Experiment konnte bei keiner MML ein vorher nicht vorhandener genotypischer Unterschied im Körpergewicht nachgewiesen werden, während fünf MML eine zuvor nicht feststellbare Körpertemperaturdifferenz zwischen Kontrollen und Mutanten zeigten.

Ist ein unter *ad libitum* Bedingungen gemessener Unterschied in einem Parameter am Ende der Futterreduktionsphase nicht mehr nachweisbar oder tritt eine genotypspezifische Differenz am Ende der Futterreduktionsphase erstmals auf, so ist dies auf eine abweichende Reduktion des Körpergewichts bzw. absinkende Körpertemperatur in Folge des Energiedefizits zurückzuführen.

Der Körpergewichtsverlust in Folge der Futterreduktion war mit dem Ausgangsgewicht der Maus unter *ad libitum* Bedingungen korreliert, so dass entschieden wurde, die auf das Ausgangskörpergewicht normalisierte Körpergewichtsabnahme mittels multipler Regressionsanalyse statistisch zu vergleichen.

Die Mutanten von 11 MML unterschieden sich in der Reaktion auf das Energiedefizit von den Kontrollen. Hierbei zeigten die Mutanten von vier MML allein in der normalisierten Körpergewichtsreduktion Abweichungen von den Kontrollen. Bei fünf MML wurde allein ein unterschiedliches Absinken der Körpertemperatur der Mutanten festgestellt. Eine Kombination aus veränderter Körpergewichts- und Körpertemperaturreduktion zeigten zwei MML, deren Mutanten auf das Energiedefizit mit einem höheren Körpergewichtsverlust und einem stärkeren Absinken der Körpertemperatur reagierten als die jeweiligen Kontrollen.

Unter chronischer Futterreduktion zeigte keine MML, die unter *ad libitum* Bedingungen unauffällig war, signifikante Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen.

Auffallend war, dass ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausgangskörpergewicht unter *ad libitum* Bedingungen und sowohl dem Körpergewichtsverlust als auch dem Absinken der Körpertemperatur im Laufe der Futterreduktionsphase bestand. Je schwerer die Maus zu Beginn der Futterreduktion war, desto mehr Körpergewicht verlor sie und desto weniger sank ihre Körpertemperatur. Je leichter eine Maus zu Beginn der Futterreduktion war, desto weniger Körpergewicht verlor sie und desto mehr sank ihre Körpertemperatur. Dies deutet darauf hin, dass schwere Mäuse zuerst ihre Energiereserven mobilisieren, bevor sie gezwungen sind, durch energiesparende Maßnahmen, wie beispielsweise einer Absenkung des Ruhestoffwechsels oder eine Verminderung der Thermogenese, einer weiteren Reduktion des Körpergewichts entgegenzuwirken. Eine ähnliche Vorgehensweise konnte auch bei der goldenen Stachelmaus (*Acomys russatus*) beobachtet werden. Schwere Mäuse begannen mit dem Torpor (d.h. mit dem Ansenken des Energieverbrauchs, das von einem Absinken der Körpertemperatur begleitet wurde) später und zeigten kürzere Torporereignisse als Stachelmäuse mit einem geringeren Ausgangsgewicht (Ehrhardt et al. 2005). Da leichte Mäuse, bei gleicher Größe, einen geringeren Fettanteil aufweisen, sind ihre Energiereserven vergleichsweise gering, so dass sie schon zu Beginn der Futterreduktion auf Energiesparmechanismen, wie eine verringerte Thermogenese oder ein Absenken des Stoffwechsels, angewiesen sind.

Insgesamt lässt sich sagen, dass es für die Maus mehrere Möglichkeiten gibt, auf das Energiedefizit in der Nahrungsaufnahme, und damit auf die herbeigeführte negative Energiebilanz, zu reagieren. Wird das Energiedefizit kompensiert, indem die Energiereserven des Körpers mobilisiert werden, so kann die Körpertemperatur annähernd verteidigt werden. Erfolgt keine Mobilisierung der Energiereserven, oder können keine Energiereserven mobilisiert werden, so muss eine Kompensation über einen verringerten Energieverbrauch erfolgen, was sich anhand einer Körpertemperaturabsenkung bemerkbar macht. Aus Abbildung 32 (Abschnitt 3.2.5) geht hervor, dass die Maus nicht mit einer `entweder oder´ Strategie auf ein Energiedefizit reagieren muss, sondern dass auch eine Kombination aus Energieeinsparung und Körpergewichtsabnahme möglich ist, wobei keiner der beiden Parameter direkt vom anderen abhängt. Diese unterschiedlichen Strategien der Kompensation des Energiedefizits konnten am Beispiel der MML SMA005 und EYL gezeigt werden. SMA005-Mutanten unterschieden sich in der Körpergewichtsabnahme nicht von ihren Kontrollen. Dafür sank die Körpertemperatur der Mutanten im Vergleich zu den Kontrollen stärker ab. Bei der MML EYL verhielt es sich genau umgekehrt: Hier unterschieden sich Mutanten und Kontrollen nicht im Absinken der Körpertemperatur, während die Mutanten einen stärkere Körpergewichtsverlust aufwiesen als die Kontrollen.

4.2.3.4 Die akute Futterreduktion

Während Mäuse bei einer chronischen (40 %igen) Futterreduktion noch Energie über die Nahrung aufnehmen können, sind sie bei einem akuten (100 %igen) Futterentzug darauf angewiesen, die Energiereserven ihres Körpers zu mobilisieren, um so die lebenswichtigen Organe mit Energie versorgen zu können. Besonders die Versorgung des Gehirns mit Glukose muss gewährleistet sein. Die Maus verfügt über hoch entwickelte Mechanismen, mit Hilfe derer sie in der Lage ist, den Blutglukoselevel innerhalb enger Grenzen zu kontrollieren. Bleibt nun die Glukoseversorgung über die Nahrung aus, sinkt der Insulinspiegel und der Glukagonlevel im Blut steigt an, was eine Mobilisierung der Glukosespeicher der Leber zur Folge hat. Die Glukoseproduktion der Leber ist unter Fastenbedingungen lebenswichtig (Vidal-Puig und O’Rahilly 2001; Matsumoto und Accili 2006). Eine weitere Glukosequelle stellt der Dünndarm dar. Sokolovic et al. (2007) zeigten, dass in Folge einer dreitägigen 100 %igen Futterreduktion bei Mäusen

ein 30 %igen Körpergewichtsverlust bei gleichzeitiger 50 %iger Reduktion des Darmgewichts festzustellen war. Während die Architektur des Darms sich nicht veränderte, schien seine Gewichtsreduktion mit der Herstellung von Glukose, Laktat und Ketonkörpern zur Überbrückung des Energiedefizits zusammenzuhängen.

Ein 100 %iger Futterentzug stellt die Maus somit vor eine wesentlich größere Herausforderung als eine Futterreduktion um 40 %. Wird der Maus sämtliches Futter entzogen, hat sie keine Möglichkeit, das entstehende Energiedefizit zu kompensieren, da die Energieaufnahme gleich Null ist. Vielmehr muss sie im Idealfall sofort damit beginnen, die Energiereserven ihres Körpers zu nutzen und den Energieverbrauch einzuschränken. Die Tiere nahmen im Verlauf der 48 Stunden, in denen ihnen kein Futter zur Verfügung stand, durchschnittlich 5.3 g ab. Gleichzeitig sank ihre durchschnittliche Körpertemperatur um 2.9 °C.

Gemäß der unter 4.2.4.3 erläuterten Vorgehensweise wurde zunächst verglichen, ob die unter *ad libitum* Bedingungen gefundenen genotypischen Unterschiede im Körpergewicht bzw. in der Körpertemperatur auch am Ende der 100 %igen Futterreduktion bestätigt werden konnten. Hierbei fiel auf, dass der Körpergewichtsunterschied nur bei einer MML nicht mehr nachgewiesen werden konnte. Bei keiner MML konnte ein genotypischer Körpergewichtsunterschied festgestellt werden, der unter *ad libitum* Bedingungen noch nicht gezeigt werden konnte. Der unter *ad libitum* Bedingungen gefundene Körpertemperaturunterschied von Mutanten und Kontrollen war am Ende des Futterreduktionsexperiments bei fünf Linien nicht mehr nachweisbar. Bei acht MML konnte ein genotypischer Körpertemperaturunterschied nachgewiesen werden, der unter *ad libitum* Bedingungen nicht feststellbar war.

Die Analyse der Körpergewichts- bzw. Körpertemperaturreduktion zeigte, dass sich die Mutanten von acht MML allein in der Körpergewichtsreduktion von den Kontrollen unterschieden, während sieben MML ausschließlich genotypische Abweichungen im Absinken der Körpertemperatur aufwiesen. Nur die Mutanten zweier MML unterschieden sich in beiden Parametern von den Kontrollen.

Da die Körpergewichtsreduktion auch im Falle der akuten Futterreduktion mit dem Ausgangskörpergewicht korreliert war, wurde wieder eine statistische Analyse des normalisierten Körpergewichtsverlusts durchgeführt. Der Vergleich der normalisierten Körpergewichtsabnahme zeigte genotypspezifische Differenzen bei vier MML. Zusammen mit den sieben MML, deren Mutanten sich anhand des Absinkens der Körpertemperatur von den Kontrollen unterschieden, wiesen insgesamt 11 MML unter akuter

Futterreduktion einen metabolischen Phänotyp auf. Hierbei fällt auf, dass bei keiner MML eine Kombination aus genotypspezifischen Unterschieden in einer Kombination beider Parameter festgestellt werden konnte.

Unter akuter Futterreduktion konnte bei sechs MML ein metabolischer Phänotyp beschrieben werden, die unter *ad libitum* Bedingungen keine Abweichungen der Mutanten von den Kontrollen aufwiesen.

Auch unter diesem Futterreduktionsregime verloren schwere Mäuse durchschnittlich mehr Körpergewicht als leichte. Das Absinken der Körpertemperatur war ebenfalls mit dem Ausgangskörpergewicht korreliert. Die Körpertemperatur schwerer Mäuse sankt im Verlauf der 48 Stunden nur leicht ab. Leichte Mäuse, denen wenig bis gar keine Energiereserven ihres Körpers zur Verfügung standen, reagierten hingegen mit einem besonders deutlichen Absinken der Körpertemperatur um bis zu -16°C . Die stärkste Absenkung der Körpertemperatur trat bei den MML CCR1/CCR5 und Surf1 auf. Dieser Effekt war jedoch nicht abhängig vom Genotyp der Mäuse. Bei männlichen und weiblichen Mäusen beider Linien zeigten jeweils ca. 50 % der Mutanten und Kontrollen eine starke Absenkung der Körpertemperatur (12 bis 16°C), während die Körpertemperatur der anderen Mutanten und Kontrollen um maximal 5°C (CCR5/CCR1) bzw. 7°C (Surf1) sank. Das starke Absinken der Körpertemperatur von bis zu -16°C legt die Vermutung nahe, dass die Mäuse ihren Energieverbrauch durch Torpor einschränken. Bei beiden MML handelt es sich um Linien auf einem C57BL/6J-Hintergrund (CCR5/CCR1: 12 Generationen, Surf1: eine Generation). Aus der Literatur ist bekannt, dass C57BL/6J-Mäuse unter Futterreduktion Torpor zeigen (Webb et al. 1982; Koizumi et al. 1992).

Generell konnte bei akuter Futterreduktion insbesondere in der Körpertemperaturabsenkung eine starke Streuung der Werte festgestellt werden. Die Interpretation dieser Streuung wird dadurch erschwert, dass weder Informationen über die Körperlänge noch über die Körperzusammensetzung der Mäuse zur Verfügung standen. Es wäre also beispielsweise möglich, dass die Mäuse aufgrund struktureller Größenunterschiede bei gleichem Körpergewicht eine unterschiedliche Körperzusammensetzung aufweisen. Mäuse, deren Körpergewicht aufgrund ihrer reduzierten Körperlänge erniedrigt war, würden beispielsweise über eine normale Körperzusammensetzung verfügen, so dass sie das Energiedefizit durch Mobilisierung ihrer Körperfettreserven kompensieren könnten und ihre Körpertemperatur in Folge dessen weniger stark absinken würde. Im

Gegensatz dazu würden Mäuse, deren reduziertes Körpergewicht nicht in einer niedrigeren Körperlänge sondern in einem niedrigeren Körperfettanteil begründet lag, keine oder kaum Energiereserven mobilisieren können. Sie müssten das Energiedefizit folglich durch eine Reduktion des Energieverbrauchs kompensieren, was sich in einem Absinken der Körpertemperatur widerspiegelt würde.

Weiterhin wurden nicht nur Unterschiede in der Körpertemperaturabsenkung von Mutanten und Kontrollen festgestellt, sondern auch innerhalb einzelner MML. Ein Beispiel hierfür sind die bereits erwähnten MML CCR5/CCR1 und Surf1, bei denen festgestellt werden konnte, dass einige Mutanten und Kontrollen ihre Körpertemperatur deutlich absenkten, während ihre Wurfgeschwister nur ein geringes Absinken der Körpertemperatur aufwiesen.

Am Beispiel der MML EPS8 und HDAC2 wurde gezeigt, dass auch in dem Grad des Absinkens der Körpertemperatur nicht nur deutliche Unterschiede zwischen den Genotypen sondern auch zwischen den einzelnen MML zu erkennen waren. EPS8-Mutanten wiesen im Körpergewicht unter *ad libitum* Bedingungen nur einen geringfügigen Unterschied zu ihren Kontrollen auf und unterschieden sich, bei Fütterung einer normalen Haltungsdiät, auch während des Futterentzugs nicht in der Reduktion ihres Körpergewichts von ihnen. Sie zeigten jedoch ein vergleichsweise schwächeres Absinken der Körpertemperatur, was darauf hinweist, dass EPS8-Mutanten über die Möglichkeit einer effizienteren Nutzung ihrer Energiereserven verfügten oder diese schneller mobilisieren konnten als die Kontrollen. Die HDAC2-Mutanten wiesen bereits unter *ad libitum* Bedingungen ein vergleichsweise niedrigeres Körpergewicht auf als die Kontrollen. Unter Futterentzug unterschieden sie sich im Körpergewichtsverlust nicht von ihren Kontrollen. Ein stärkeres Absinken der Körpertemperatur weist jedoch darauf hin, dass der Futterentzug die HDAC2-Mutanten vor größere energetische Probleme stellte als die jeweiligen Kontrolltiere.

Während unter 40 %iger Futterreduktion ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Körpergewichtsreduktion und dem Absinken der Körpertemperatur bestand, konnte bei 100 %igem Futterentzug keine Korrelation festgestellt werden. Allerdings fiel hier ein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Reaktion auf den Futterentzug auf. Während nur Männchen einzelner Linien ihre Körpertemperatur stark absenkten, war die Streuung bei den Weibchen höher. Die Männchen reduzierten ihr Körpergewicht durchschnittlich um 5.5 g und senkten ihre Körpertemperatur um 2.1 °C, während die Weib-

chen weniger (4.9 g) Körpergewicht verloren und ihre Körpertemperatur stärker (3.5 °C) sank. Die Weibchen zeigten im Vergleich zu den Männchen unter akuter Futterreduktion folglich eine niedrigere Plastizität der Körpergewichtsregulation und eine höhere Plastizität der Körpertemperaturregulation. Auch hier erschwerten die fehlenden Informationen zu Körperlänge und Körperzusammensetzung insbesondere im Fall der Weibchen die Interpretation der Streuung.

4.2.3.5 Der Vergleich der Futterreduktionsregime

Während der beiden Formen von Futterreduktionsexperimenten reduzierten die Mäuse ihr Körpergewicht um einen vergleichbaren Betrag (18 %), wohingegen die Körpertemperatur der chronisch futterreduzierten Mäuse am letzten Versuchstag eine geringere Absenkung aufwies als die der akut futterreduzierten Mäuse. Daraus kann man folgern, dass die akute Futterreduktion eine stärkere Belastung für die Mäuse darstellt.

Im Gegensatz zur akuten Futterreduktion besteht im Verlauf der chronischen Futterreduktion für die Mäuse die Möglichkeit, das Energiedefizit beispielsweise durch eine verringerte Aktivität oder eine niedrigere Thermogenese zu kompensieren. Weiterhin werden durch eine Körpergewichtsreduktion energetisch günstigere Bedingungen geschaffen, da der Energiebedarf eines leichteren Organismus gegenüber dem Energiebedarf eines schweren Organismus verringert ist. Die gleich bleibende Futterportion stellt am Ende der Futterreduktionsphase aufgrund der Körpergewichtsreduktion folglich eine relativ gesehen höhere Energieversorgung dar als zu Beginn des Futterreduktionsexperiments. Die Möglichkeit durch eine Körpergewichtsreduktion den Energiebedarf des Organismus einzuschränken macht sich beispielsweise der Djungarische Zwerghamster (*Phodopus sungorus*) zu nutze, der im Verlauf des Winters sein Körpergewicht um ca. 30 % reduziert, um so seinen Energiebedarf zu senken (Heldmaier und Steinlechner 1981). Dass die Körpergewichtsreduktion nicht die Folge einer Futterknappheit ist, sondern durch die Tageslänge gesteuert wird, konnten Steinlechner et al. (1983) zeigen.

Unter beiden Futterreduktionsregimen bestand ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausgangskörpergewicht unter *ad libitum* Bedingungen und dem Verlust des Körpergewichts. Schwere Mäuse verloren in beiden Fällen durchschnittlich mehr Körpergewicht als leichte, allerdings war die Steigung der Regressionsgeraden der akuten

Futterreduktion nicht so steil wie am Beispiel der chronischen Futterreduktion, was darauf hindeutet, dass bei der akuten Futterreduktion der Unterschied im Körpergewichtsverlust zwischen leichten und schweren Tieren vergleichsweise kleiner war als bei einem Energiedefizit von 40 %. Ein Blick auf den Zusammenhang zwischen dem Absinken der Körpertemperatur und dem Ausgangskörpergewicht zeigte, dass hier ebenfalls bei beiden Futterreduktionsregimen ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Ausgangskörpergewicht und dem Absinken der Körpertemperatur bestand. Die Steigung der Regressionsgeraden der akuten Futterreduktion war verglichen mit der der chronischen Futterreduktion steiler, was auf einen vergleichsweise größeren Unterschied im Absinken der Körpertemperatur zwischen leichten und schweren Mäusen hinwies.

Um den Beitrag der unterschiedlichen Futterreduktionsexperimente zur Identifizierung neuer metabolischer Phänotypen beurteilen zu können, muss neben dem Vergleich der Anzahl der gefundenen Phänotypen auch die Frage beantwortet werden, welche zusätzlichen Informationen zu den unter *ad libitum* Bedingungen erhobenen Parametern die unterschiedlichen Futterreduktionsregime liefern konnten.

Unter chronischer Futterreduktion konnten bei 31 % der Linien phänotypische Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen festgestellt werden. Alle Linien waren bereits unter *ad libitum* Bedingungen auffällig geworden.

Mittels des akuten Futterreduktionsregimes konnten bei 35 % der Linien phänotypische Abweichungen zwischen den Genotypen bestimmt werden. Hierbei wurden 6 Linien (EPS8, EYA3, FIN13, MCT8, SUMO1, UBB) auffällig, die unter *ad libitum* Bedingungen keine signifikanten Unterschiede gezeigt hatten.

Weiterhin wurden jeweils eine Kohorte der FIN13- bzw. CIN85-Mäuse unter chronischer bzw. akuter Futterreduktion untersucht. Im Falle beider Linien konnte bei der chronischen Futterreduktion keine Differenz zwischen Mutanten und Kontrollen festgestellt werden, während bei vollständigem Futterentzug beide Linien genotypische Unterschiede zeigten.

Insgesamt lässt sich also sagen, dass der 100 %ige Futterentzug in einem größeren Prozentsatz der untersuchten MML phänotypische Unterschiede detektieren konnte, bei einer größeren Anzahl von MML zusätzliche Informationen lieferte und anhand von zwei MML im direkten Vergleich mit der chronischen Futterreduktion in beiden Fällen Unterschiede zwischen Kontrollen und Mutanten zeigen konnte, während unter chroni-

scher Futterreduktion keine genotypspezifischen Abweichungen festgestellt werden konnten. Ein weiterer Vorteil des absoluten Futterentzugs ist die Zeitersparnis im Vergleich zur 40 %igen Futterreduktion. Körpergewicht und rektale Körpertemperatur müssen nur an zwei Tagen bestimmt werden, und das Portionieren des Futters für die täglich verabreichte Futtermenge entfällt ebenso wie die Aufbereitung und Analyse der Kotproben.

4.2.4 Bestätigung bekannter Phänotypen und Reproduzierbarkeit der erhobenen Daten

Ein wichtiges Kriterium zur Qualitätsbeurteilung einer phänotypischen Analyse ist, neben der Vorgabe, dass sie möglichst umfassend sein soll, die Reproduzierbarkeit der Daten. Gefundene Phänotypen müssen reproduzierbar sein, und bereits bekannte Phänotypen sollten bestätigt werden können (Solberg et al. 2006, Champy et al. 2004, Gailus-Durner et al. 2005, Fuchs et al. in Press).

Um die Frage nach der Reproduzierbarkeit der Daten zu beantworten, wurden zunächst Mäuse der Linie C57BL/6J verglichen, die die GMC im jährlichen Rhythmus als Qualitätskontrolle durchlaufen (Gailus-Durner et al. 2005). Mit Ausnahme der *ad libitum* Körpertemperatur, deren Werte im Jahr 2003 höher lagen als in den beiden folgenden Jahren, zeigte keiner der anderen erhobenen Parameter signifikante Unterschiede.

Weiterhin wurden sechs der MML im *Primärscreen* wiederholt gemessen. Die zweite Messung wurde entweder auf Wunsch des *Providers* oder zur Bestätigung der Daten im Rahmen einer detaillierteren Analyse der MML im Sekundär- und Tertiärscreen des metabolischen Labors durchgeführt. Mit Ausnahme der CIN85 konnten bei allen Linien die im ersten Durchlauf erhobenen Ergebnisse bestätigt werden. Die CIN85 des zweiten Durchlaufs waren 45 ± 5 Tage älter als die erste Gruppe, so dass eine mögliche altersbedingte Veränderung der Energieassimilation vorliegen könnte.

Bei 12 der gemessenen MML wurde im Vorfeld der metabolischen Phänotypisierung ein Phänotyp in mindestens einem der bestimmten Parameter beschrieben. In 11 Fällen konnte der bestehende Phänotyp durch die im Rahmen des *Primärscreens* erhobenen Daten bestätigt werden. Die Linie MCHR1 wurde im Vorfeld als hyperphag beschrieben, was durch die primäre metabolische Phänotypisierung nicht bestätigt werden konn-

te. Im metabolischen Screen fielen die MCHR1-Mäuse durch einen hohen Futterverbrauch auf. Wurde dieser allerdings mittels des gesammelten Raspelguts korrigiert (Kontrollen raspelten durchschnittlich 2.0 g d^{-1} und Mutanten 5.0 g d^{-1}) bewegte sich der Futterverbrauch innerhalb der für das Körpergewicht der Mäuse angemessenen Werte. Marsh et al. und Chen et al. (beide 2002) führten keine Korrektur der Futteraufnahme für geraspeltes Futter durch. Die fehlende Korrektur könnte also zu einer fälschlich angenommenen Hyperphagie geführt haben.

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit dafür, dass Phänotypen möglicherweise nicht detektiert werden kann eine fehlende Trennschärfe sein. Ein statistischer Unterschied kann demnach entweder nicht statistisch nachgewiesen werden, weil tatsächlich kein Unterschied existiert, oder aber weil die Power des statistischen Verfahrens zu gering ist.

4.3 Eine umfassende metabolische Charakterisierung der übergewichtigen MML HWE007

Die MML HWE007 (engl. *hheavy weight*) entstammt dem Münchner ENU-Mutageneseprojekt. Sie fiel im Primärscreen des metabolischen Labors nicht nur dadurch auf, dass die Mutanten im Alter von 18 Wochen signifikant schwerer waren als die Kontrollen, sondern auch dadurch, dass dieser Gewichtsunterschied größer war als bei allen anderen bis dahin untersuchten MML.

4.3.1 Schwere Mäuse = fette Mäuse?

Adipositas wird medizinisch als ein Zustand erhöhten Körpergewichts, das durch eine erhöhte Fettmasse verursacht wird, definiert (Kuczmarski et al. 1994). In der Adipositasforschung besteht dringender Bedarf an neuen Tiermodellen. Um zu belegen, dass die MML HWE007 als ein neues Tiermodell für Adipositas in Frage kommt, musste somit zuerst der Grund für das erhöhte Körpergewicht der Mutanten geklärt werden.

Die HWE007-Mutanten waren nicht größer, sondern hatten einen höheren Körperfettanteil und eine niedrigere fettfreie Masse als die Kontrollen.

4.3.2 Fett – nur ein Energiespeicher?

Der grundlegende Mechanismus von Fettgewebe ist die Energiespeicherung und die Energieversorgung des Körpers im Falle einer negativen Energiebilanz. Adipozyten bestehen bis zu 90 % aus Triglyzeriden. Triglyzeride weisen mit ca. 38 kJ g^{-1} eine wesentlich höhere Energiedichte auf als Proteine und Kohlehydrate (beide 17 kJ g^{-1}) und eignen sich folglich besonders gut zur Energiespeicherung. Ein Gramm weißes Fettgewebe verfügt über einen ungefähren Energiegehalt von ca. 29 kJ g^{-1} (Klaus 2004). Besonders für endotherme Tiere ist die Fähigkeit Energie zu speichern von großer Bedeutung, da die Aufrechterhaltung der Körpertemperatur eine fortwährende Versorgung mit Energie für die Thermogenese voraussetzt (Heldmaier und Neuweiler 2004).

Dass die Funktion des Fettgewebes jedoch weit über die eines einfachen Energiespeichers hinausgeht, wird deutlich, wenn zu wenig bzw. zu viel Körperfett vorhanden ist. Eine zu geringe Menge an Körperfett, wie sie z.B. durch eine Lipodystrophie verursacht wird, kann ebenso zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen führen (Klingenspor et al. 1999, Reue et al. 2000) wie eine übermäßige Ansammlung von Fettmasse (Kopelmann (2000).

Die Entdeckung von Leptin als Hormon, das durch Fettzellen sezerniert wird und eine wichtige Rolle in der Nahrungsaufnahme, dem Energieverbrauch und der Energiebilanz spielt (Houseknecht et al. 1998, Döring et al. 1998, Exner et al. 2000, Attale 2002, Farooqi und O'Rahilly 2006), machte erstmals die Bedeutung des Fettgewebes innerhalb des Energiemetabolismus und seiner Signalwege deutlich. Vorangetrieben durch die Entdeckung des Leptins wurde eine große Zahl weiterer bioaktiver Moleküle (so genannte Adipokine) entdeckt. Unter ihnen z.B. das Adiponektin, dessen Plasmalevel negativ mit Adipositas korreliert ist und mit seiner insulinsensibilisierenden Wirkung unter anderem für die Insulinresistenz adipöser Patienten mitverantwortlich ist (Guerre-Millo 2004, Soodini 2004, Rosen und Spiegelman 2006).

Neben der Fettmenge spielt außerdem auch das Verteilungsmuster des Körperfetts eine wichtige Rolle. Grundsätzlich wird zwischen subkutanem und viszeralem Fettgewebe unterschieden. Personen, die eine erhöhte Menge viszeralen Fettgewebes (Bauchfett)

aufweisen, unterliegen einer vielfach höheren Wahrscheinlichkeit, an Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder Diabetes zu erkranken als eine Person, die vermehrt Fett an den Extremitäten akkumuliert. Eine Erhöhung des viszeralen Fettanteils gehört zu den vier Risikofaktoren des Metabolischen Syndroms (Bray et al. 2008; Mihic und Modi 2008).

Fettgewebe wird funktionell in zwei Gewebearten unterschieden: das weiße (WAT, engl. *white adipose tissue*) und das braune (BAT, engl. *brown adipose tissue*) Fettgewebe (Himms-Hagen 1984; Himms-Hagen 1985; Jéquier und Tappy 1999). Während die Eigenschaften des WAT bereits erläutert wurden, besteht die Aufgabe des BAT hauptsächlich in der zitterfreien Wärmebildung (NST, engl. *non shivering thermogenesis*). Das BAT erhält seine braune Färbung durch eine hohe Mitochondriendichte (Klingenspor 2003). Den Mitochondrien des BAT ist das UCP1 (Entkopplerprotein, engl. *uncoupling protein*) eigen, das die Atmungskette von der ATP-Synthese entkoppelt. UCP1 macht die innere Mitochondrienmembran für Protonen durchlässig. Der durch die Atmungskette aufgebaute Protonengradient wird abgebaut und ist somit für die ATP-Synthese nicht mehr nutzbar, was ein Freisetzen der im Protonengradienten enthaltenen Energie in Form von Wärme bewirkt (Nicholls und Locke 1984). Das BAT leistet somit einen Beitrag zur Thermogenese. Hier spielt es eine große Rolle bei Aufwachvorgängen aus dem Winterschlaf und bei der Anpassung an Kälte (Heldmaier und Buchberger 1985, Blumberg et al. 1997, Cannon und Nedergaard 2004).

In Bezug auf die Entwicklung von Adipositas stellte sich heraus, dass Mäuse mit einem geringeren Anteil BAT, deren thermoregulatorische Kapazität aufgrund dessen um bis zu 50 % herabgesetzt ist, nachweislich anfälliger für Adipositas und Diabetes sind (Lowell et al. 1993, Hamann et al. 1996).

Fettgewebe ist also keineswegs ein metabolisch inertes Gewebe, dessen Aufgabe ausschließlich in der endogenen Energiespeicherung besteht. Vielmehr ist es ein heterogenes Gewebe mit vielfältigen Aufgaben.

4.3.3 Wie entsteht Übergewicht?

Übergewicht entsteht, wenn die Energieaufnahme über einen längeren Zeitraum den Energieverbrauch übersteigt, und die nicht genutzte Energie in Folge dessen in Form von Fett gespeichert wird.

Eine nahe liegende Erklärung für eine positive Energiebilanz ist eine erhöhte Energieaufnahme über die Nahrung. Im Vergleich mit den Kontrollen zeigten die Mutanten der Linie HWE007 keinen signifikanten Unterschied in der pro Tier metabolisierten Energie. Die graphische Abbildung der Werte zeigt jedoch, dass die schwereren Mutanten sich in der Energieaufnahme nicht von den Kontrollen unterscheiden und somit weniger Energie metabolisieren als man es für ihr Körpergewicht annehmen würde. Da die Energieaufnahme mit dem Körpergewicht positiv korreliert ist, muss in eine sinnvolle statistische Analyse der metabolisierten Energie das Körpergewicht mit einbezogen werden. Die Suche nach einem gültigen statistischen Verfahren wird jedoch dadurch erschwert, dass die Einteilung der MML HWE007 in schlanke Mutanten und übergewichtige Kontrollen nach dem Erscheinungsbild und dem Körpergewicht der Mäuse erfolgte (vergleiche Abschnitt 2.1.1). Dadurch bewegt sich das Körpergewicht der einzelnen Gruppen in sehr engen Grenzen. Weiterhin ist der Abstand zwischen den Gruppen sehr groß. Diese Verteilung der Daten lässt keine korrekte Berechnung einer Regressionsgeraden zu. Der parallele Verlauf der Regressionsgeraden bildet jedoch die Voraussetzung eines statistischen Vergleichs mittels ANCOVA.

Eine multiple Regressionsanalyse ermöglichte den Vergleich der auf das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie in der Gruppe der einjährigen HWE007-Mäuse. Hier konnte kein statistischer Unterschied der metabolisierten Energie festgestellt werden. Bei den 18 Wochen alten Tieren wurde die multiple Regressionsanalyse durch das Vorhandensein einer Multikollinearität verhindert. Die unabhängigen Parameter wiesen eine starke Korrelation miteinander auf, die das Ergebnis der multiplen Regressionsanalyse verfälscht. Keith und Marill (2004) empfehlen das Erhöhen der Stichprobengröße oder die Entfernung einer Variablen, um die Multikollinearität zu verringern. Eine Erhöhung der Stichprobengröße war im Fall der MML HWE007 nicht möglich. Auch die nach Geschlechtern getrennte Analyse konnte die Kollinearität nicht eliminieren, so dass eine Beurteilung der metabolisierten Energie allein anhand der graphischen Darstellung dieses Parameters in Abhängigkeit vom Körpergewicht erfolgte (Abb. 36, Abschnitt 3.3.3). Auch bei den 18 Wochen alten Mäusen konnte zwischen den schweren

Mutanten und den leichten Kontrollen kein Unterschied in der absolut metabolisierten Energie festgestellt werden (Vergleiche Abb. 37, Abschnitt 3.3.3).

Die positive Energiebilanz liegt bei der MML HWE007 somit nicht in einer erhöhten Energieaufnahme begründet.

Der Grund für die positive Energiebilanz musste also in einem vergleichsweise niedrigen Energieverbrauch liegen. Der Gesamtenergieverbrauch einer Maus setzt sich im Wesentlichen aus ihrer physischen Aktivität, der adaptiven Thermogenese und dem Basalstoffwechsel zusammen. Da die Mutanten sich weder in der rektalen Körpertemperatur noch in der mittels Telemetrie erfassten Körperkerntemperatur signifikant von den Kontrollen unterschieden, lag demzufolge kein Unterschied in der Thermogenese vor. Im Alter von 21 Wochen zeigten die Kontrollen während der Dunkelfase eine höhere Spontanaktivität als die Mutanten. Im Mittelwert über 24 Stunden war jedoch kein Unterschied zwischen Kontrollen und Mutanten feststellbar.

Eine Bestimmung der Thermoneutralzone anhand des Ruhestoffwechsels (RMR, engl. *resting metabolic rate*) bei verschiedenen Umgebungstemperaturen ergab, dass die Thermoneutralzone der Mutanten beider Geschlechter bei 32 °C lag. Ähnlich verhielt es sich bei den Kontrollen, deren Thermoneutralzone sich in einem Temperaturbereich von 32 – 34 °C befand. Innerhalb der Thermoneutralzone müssen die Mäuse keine zusätzliche Energie für die Thermoregulation aufwenden. Der Energieverbrauch, den eine ruhende Maus innerhalb der Thermoneutralzone aufweist, stellt somit den Basalstoffwechsel dar (BMR, engl. *basal metabolic rate*). Auch in diesem Parameter unterschieden sich HWE007-Mutanten nicht signifikant von den Kontrollen. Unter Berücksichtigung des Körpergewichtsunterschieds lässt sich also sagen, dass der Basalstoffwechsel der Mutanten unter dem Wert liegt, den man für Mäuse ihres Körpergewichts erwarten würde. Ein geringerer BMR trägt zu einer Energieeinsparung seitens des Energieverbrauchs bei. Um auch eine Aussage über den Energieverbrauch bei Haltungsbedingungen treffen zu können, wurde der tägliche Energieverbrauch (DEE, engl. *daily energy expenditure*) der Mäuse bei Haltungstemperatur bestimmt. In allen drei Altersstufen war der DEE der Mutanten nicht signifikant unterschiedlich von dem der Kontrollen. Wie auch schon bei der Auswertung der metabolisierten Energie konnte die multiple Regressionsanalyse bei 21 und 35 Wochen alten HWE007-Mäusen aufgrund des Auftretens von Multikollinearitäten nicht durchgeführt werden. Die Stoffwechseldaten der jüngeren Mäuse konnten folglich ausschließlich durch Auftragung des Energieverbrauchs über das Körpergewicht verglichen werden (vergl. Abb. 39 und 41, Ab-

schnitt 3.3.5). Die schwereren Mutanten unterschieden sich im täglichen Energieverbrauch nicht von den leichteren Kontrollen. Folglich verbrauchen sie weniger Energie als man es für ihr Körpergewicht annehmen würde. Die Daten der einjährigen Mäuse ließen einen statistischen Vergleich des Energieverbrauchs unter Berücksichtigung des Körpergewichts mittels multipler Regressionsanalyse zu. Der niedrigere Energieverbrauch der einjährigen Mäuse konnte statistisch bestätigt werden.

In allen gemessenen Altersstufen war der Energieverbrauch der Mutanten vergleichsweise niedriger als der der Kontrollen. Dies führte zu einer positiven Energiebilanz, die im zeitlichen Verlauf zu einer Akkumulation von Körperfett führte und somit den erhöhten Körperfettanteil der Mutanten begründete.

4.3.4 Übergewicht als Risikofaktor für Typ-2-Diabetes

Während Typ-1-Diabetes durch einen Verlust der Insulin produzierenden β -Zellen der Langerhansschen Inseln des Pankreas und der daraus resultierenden Insulindefizienz charakterisiert ist, weisen Patienten, die an Typ-2-Diabetes leiden, eine relative Insulinresistenz bzw. Insulinunempfindlichkeit auf. 90 % der Diabeteserkrankungen entfällt auf Typ-2-Diabetes (Sikaris 2004).

Neben Übergewicht ist Insulinresistenz der zweite große Faktor bei der Entstehung des Metabolischen Syndroms. Eine Ursache für Insulinresistenz ist beispielsweise die Einlagerung von Fettzellen in das Muskelgewebe, wodurch die Aufnahme der Blutglukose in das Muskelgewebe verringert wird. Einen weiteren Beitrag zur Insulinresistenz liefert das durch die Fettzellen sezernierte Hormon Adiponektin, das die Sensitivität der Insulinrezeptoren beeinflusst. Da Adiponektin von den Fettzellen des Körpers antiproportional zu ihrem Füllungsstand sezerniert wird verfügen übergewichtige Menschen über einen niedrigen Adiponektinspiegel im Blut, was zur Insulinunempfindlichkeit der Rezeptoren beiträgt (Saito 2006). Als Folge der Insulinresistenz wird Glukose nicht mehr abgebaut und verbleibt im Blut, wodurch immer größere Mengen an Insulin produziert werden, um die Glukose abzubauen und die hohe Glukosekonzentration senken zu können. Diese ständig steigende Insulinproduktion der β -Zellen schwächt sie und kann sie mit fortschreitender Zeit nachhaltig schädigen. In der Folge wird der Patient hyperglykämisch und mit Typ-2-Diabetes diagnostiziert (DeFronzo et al. 1987).

Laut Ford et al. 1997 steigt das Risiko an Typ-2-Diabetes zu erkranken mit jedem Kilogramm, zusätzlichen Körpergewichts um 9 % und beginnt generell ab einem BMI von 22, wohingegen es bei einem BMI von 35 sogar 40fach erhöht ist (Colditz et al. 1990, Hu et al. 2001, Must et al. 1999).

Obwohl Übergewicht zu den Hauptrisikofaktoren für die Entwicklung von Typ-2-Diabetes gezählt wird, erkranken nicht alle übergewichtigen Menschen notwendigerweise an Diabetes (Maggio und Pi-Sunyer 2003). Um feststellen zu können, ob die HWE007-Mutanten aufgrund ihres Übergewichts an Diabetes erkrankt sind, wurde ein intraperitonealer Glukosetoleranztest durchgeführt, mit dessen Hilfe die *Glukoseclearance* beurteilt werden sollte. Bereits der Fastenglukosewert war in den Mutanten signifikant höher als in den Kontrollen. Nach Injektion der Glukose zeigten die Mutanten zu allen Testzeitpunkten höhere Blutglukosewerte, was durch eine signifikant höhere Fläche unter der Kurve belegt werden konnte. Die HWE007 Mutanten wiesen somit eine gestörte *Glukoseclearance* auf, die auf einen (beginnenden) Typ-2-Diabetes schließen lässt.

Nach Coleman (1985) begünstigt ein aufgrund von Insulinresistenz bestehender hoher Insulinspiegel die Synthese von Körperbestandteilen, wie beispielsweise das Binden von freien Fettsäuren zu Fett und dessen Einlagerung, während er deren Abbau eher verhindert. Der normale Stoffwechsel besteht aus kontinuierlichen Prozessen des Auf- und Abbaus von Körperbestandteilen, die beide Energie verbrauchen. Coleman postulierte, dass der normale Auf- und Abbau-Zyklus in einer hyperinsulinämischen Mutante zu Gunsten des Aufbaus verschoben wird. Die Energie, die durch die Veränderung des normalen metabolischen Zyklus eingespart wird, könnte ein Grund für eine höhere metabolische Effizienz sein und somit ein höheres Körpergewicht der HWE007 mit begründen.

4.3.5 Die Blutwerte

Die Entstehung von Übergewicht steht häufig mit einer Veränderung des Blutbildes in Zusammenhang. Während die HWE007 keine genotypischen Differenzen im Elektrolythaushalt oder in der Konzentration der Abbauprodukte des Proteinstoffwechsels aufwiesen konnten zwischen Mutanten und Kontrollen Konzentrationsunterschiede in den Produkten des Fettstoffwechsels festgestellt werden.

Während die Triglyzeridkonzentration nicht signifikant verändert war, wiesen die Mutanten eine signifikant erhöhte Gesamtcholesterinkonzentration auf. Ein erhöhter Gesamtcholesterinwert wird häufig in Zusammenhang mit Adipositas beobachtet. Die Cholesterinproduktion nimmt mit steigendem Körpergewicht zu, so dass Übergewicht das Risiko der Entstehung von Gallensteinen erhöht (Stampfer et al. 1992).

Die Mutanten wiesen bei unveränderter *LDL*-Konzentration (*low density lipoprotein*) eine höhere *HDL*-Konzentration (*high density lipoprotein*) auf als die Kontrollen. Eine erhöhte Gesamtcholesterinkonzentration stellt einen Risikofaktor für die Entstehung von Arteriosklerose dar. Hierbei korreliert vor allem eine erhöhte *LDL*-Konzentration mit einer Arterioskleroseerkrankung während eine hohe Konzentration des *HDL* vor der Erkrankung schützt (Lusis 2000; Glass et al. 2001; Libby 2001). Neben der positiven Eigenschaft vor Arteriosklerose zu schützen ist das *HDL* auch in den Abbau von Cholesterin eingebunden, in dem es das überschüssige Cholesterin von der Peripherie zurück zur Leber transportiert, wo es abgebaut wird (Sviridov et al. 2002; Assmann und Nofer 2003). Weiterhin besitzt *HDL* entzündungshemmende und antioxidative Eigenschaften (Libby 2001; Van Lenten et al. 2001; Nofer et al. 2002).

Die erhöhten ALT-Werte (Alanin-Aminotransferase) können einen Indikator für eine Schädigung der Leber durch Fetteinlagerung darstellen. Obwohl die Fettakkumulation der Leber nicht direkt mit dem BMI zusammenhängt, steht sie doch häufig in Zusammenhang mit der Insulinresistenz übergewichtiger Personen (Seppala-Lindroos et al. 2002). Eine so genannte Fettleber entsteht durch die Einlagerung von Lipidtropfen verschiedener Größe, die besonders im Bereich der Blutgefäße auftreten. Fibrosen und Zirrosen können entstehen und die Leber schädigen (Sanyal 2002). Leberschädigungen sind im Blut durch erhöhte ALT-Werte charakterisiert (Reid 2001; Ruhl et al. 2003). Die erhöhten ALT-Werte der HWE007-Mutanten bestätigen somit den makroskopischen Befund einer Fettleber.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die Mutanten der MML HWE007 Veränderungen der Blutparameter zeigten, die im adipösen Phänotypen begründet liegen.

4.3.5 HWE007 – eine Modellinie für die Adipositasforschung?

Die im Rahmen der detaillierten phänotypischen Analyse der MML HWE007 erhobenen Ergebnisse zeigen einen Gewichtsdimorphismus von Kontrollen und Mutanten der in einem höheren Körperfettanteil der Mutanten begründet liegt. Die Ursache der positiven Energiebilanz scheint in einem niedrigen Energieverbrauch der Mutanten zu liegen. Weiterhin zeigen die Mutanten der MML HWE007 eine gestörte *Glukoseclearance* und Veränderungen des Blutbilds (z.B. einen erhöhten Gesamtcholesterinwert) die mit ihrem hohen Körpergewicht in Zusammenhang stehen.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die MML HWE007 eine neue Modellinie für die Adipositasforschung darstellt.

5 Zusammenfassung

Nach dem erfolgreichen Abschluss des humanen Genomprojekts liegt das Interesse der biomedizinischen Forschung heute besonders in der Aufklärung der Funktion der Gene. Mausmutantenlinien sind für eine detaillierte Analyse der Korrelation von Genotyp und Phänotyp prädestiniert. Mit der *German Mouse Clinic* wurde ein Phänotypisierungszentrum etabliert, in dessen Rahmen Mausmutantenlinien im Hochdurchsatzverfahren einer effizienten und standardisierten Untersuchung aller Körpersysteme unterzogen werden, um so einen potentiellen Phänotyp detektieren zu können.

Als Modul der *GMC* bestand die Aufgabe des metabolischen *Screens* in der Etablierung eines Versuchsaufbaus, der eine systematische, standardisierte und umfassende metabolische Phänotypisierung von Mausmodellen gewährleistet.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden die Phänotypisierungsdaten von 80 Mausmutantenlinien und sechs Inzuchtlinien im Gesamtüberblick ausgewertet, um Leitlinien für die metabolische Charakterisierung zu entwickeln.

Im ersten Teil wurden zunächst die Inzuchtlinien anhand ihres Körpergewichts, der metabolisierten Energie, der Assimilationseffizienz und der rektalen Körpertemperatur verglichen. Es konnte gezeigt werden, dass zwischen den sechs untersuchten Inzuchtlinien signifikante Unterschiede im Körpergewicht bestanden. Hierbei repräsentierten die Linien AKR/J und C3HeB/FeJ die Gruppe der schweren Mäuse wohingegen die Linien 129/SvJ und Balb/cJ im Mittelfeld angesiedelt waren und die Linien C57BL/6J und SWR/J das vergleichsweise niedrigste Körpergewicht aufwiesen. Anhand der metabolisierten Energie, die positiv mit dem Körpergewicht korreliert war, wurde herausgearbeitet, dass neben einem Vergleich der metabolisierten Energie pro Tier auch ein statistischer Vergleich der auf das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie von Bedeutung ist, um unterschiedlich schwere Gruppen unbeeinflusst von ihrem Gewichtsunterschied vergleichen zu können. Generell bestand zwar innerhalb der Linien ein positiver Zusammenhang zwischen Körpergewicht und metabolisierter Energie, schwere Linien metabolisierten jedoch nicht systematisch einen höheren Energiebetrag als leichte Linien. Hier fiel einerseits die Linie AKR/J auf, die bei einem hohen Körpergewicht eine vergleichsweise kleine Menge Energie metabolisierte und andererseits die Linie SWR/J, die bei einem niedrigen Körpergewicht vergleichsweise viel Energie metabolisierte. Im Vergleich der Linien wiesen SWR/J-Mäuse die geringste Assimilationseffizienz auf. C3HeB/FeJ-Mäuse zeigten eine niedrigere rektale Körpertemperatur als die

anderen Inzuchtlinien. Zwischen Körpertemperatur und Körpergewicht konnte kein Zusammenhang nachgewiesen werden.

Im Anschluss an die Untersuchung unter *ad libitum* Bedingungen wurden die Inzuchtlinien einem *Challenge*-Experiment in Form einer 40 %igen Futterreduktion unterzogen. Hierbei zeigte sich sowohl ein positiver Zusammenhang zwischen dem Ausgangsgewicht und der Gewichtsabnahme als auch eine negative Korrelation des Ausgangsgewichts mit dem Absinken der Körpertemperatur. Weiterhin fiel auf, dass ein Zusammenhang zwischen Körpergewichtsverlust und Absinken der Körpertemperatur bestand. Allgemein ging ein hoher Körpergewichtsverlust mit einem geringen Absinken der Körpertemperatur und ein niedriger Körpergewichtsverlust mit einem starken Absinken der Körpertemperatur einher.

Die Korrelation der Gewichtsabnahme mit dem Ausgangskörpergewicht machte einen statistischen Vergleich der auf das Körpergewicht normalisierten Gewichtsabnahme nötig.

Im Rahmen des *Challenge*-Experiments fiel besonders die Linie Balb/cJ auf. Die Mäuse dieser Linie reagierten auf das Energiedefizit nicht mit einem Absinken ihrer Körpertemperatur woraus ein erheblicher Körpergewichtsverlust resultierte. Am letzten Tag der Futterreduktion lag die rektale Körpertemperatur der Balb/cJ-Mäuse durchschnittlich 0.5 °C höher als unter *ad libitum* Bedingungen. Dieses Verhalten weist auf eine hungerinduzierte Hyperaktivität der Mäuse hin. Die Durchführung des *Challenge*-Experiments erwies sich folglich als sinnvoll, da bei einer unter *ad libitum* Bedingungen unauffälligen Linie in Folge der Futterreduktion ein Phänotyp festgestellt werden konnte.

Die Auswertung der Phänotypisierungsdaten von 80 Mausmutantenlinien (MML) im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit zeigte, dass bereits unter *ad libitum* Bedingungen bei 52 % der MML ein metabolischer Phänotyp festgestellt werden konnte. Innerhalb dieser MML war das Körpergewicht der Parameter in dem die meisten MML genotypspezifische Veränderungen aufwiesen (88 % der MML mit metabolischem Phänotyp). Insgesamt zeigten 20 % der 80 MML ausschließlich einen Gewichtsphänotyp. Bei 5 % der MML zeigte sich der Phänotyp allein in der normalisierten assimilierten Energie, während er bei 4 % der MML nur in einer unterschiedlichen rektalen Körpertemperatur von Kontrollen und Mutanten begründet lag. Der metabolische Phänotyp von 20 % der MML bestand in einer Kombination aus verändertem Körpergewicht und veränderter Körpertemperatur, während 5 % der MML eine Kombination aus abweichendem Kör-

pergewicht und abweichendem Betrag der auf das Körpergewicht normalisierten metabolisierten Energie von Mutanten und Kontrollen zeigten. Nur bei 2 % der Linien eine Kombination aus der Veränderung aller drei Parameter festgestellt werden.

Insgesamt wurden 64 MML einem *Challenge*-Experiment unterzogen. Hierbei wurden 34 MML einer chronischen (40 % des individuellen *ad libitum* Futterverbrauchs) und 30 MML einer akuten (100 %igen) Futterreduktion unterzogen. Am Beispiel von zwei MML durchliefen getrennte Kohorten beide Futterreduktionsexperimente. Insgesamt zeigten unter chronischer Futterreduktion 31 % der MML einen metabolischen Phänotyp. Bei 11 % der Linien konnten genotypische Unterschiede in der Körpergewichtsreduktion gefunden werden, bei 14 % der Linien im Absinken der Körpertemperatur und bei 6 % der MML eine Kombination aus der Veränderung beider Parameter.

Unter akuter Futterreduktion wurde bei 35 % der untersuchten Linien ein metabolischer Phänotyp gefunden. 13 % der MML zeigten zwischen Mutanten und Kontrollen Unterschiede in der Körpergewichtsreduktion, während die sich Mutanten von 23 % der MML in der Körpertemperaturabsenkung von den Kontrollen unterschieden. Eine Kombination aus beiden Parametern wurde in keiner MML festgestellt.

Der Vergleich der beiden Futterreduktionsregime zeigte, dass sowohl bei chronischer als auch bei akuter Futterreduktion eine positive Korrelation zwischen Ausgangskörpergewicht und Körpergewichtsreduktion und eine negative Korrelation zwischen Ausgangskörpergewicht und Körpertemperaturabsenkung bestand. Allerdings war die Differenz im Körpergewichtsverlust zwischen leichten und schweren Tieren unter chronischer Futterreduktion größer als unter akuter Futterreduktion. Der Unterschied in der Körpertemperaturabsenkung zwischen leichten und schweren Tieren war bei chronischer Futterreduktion kleiner als bei akuter Futterreduktion. Weiterhin war der Zusammenhang zwischen Körpergewichtsverlust und Körpertemperaturabsenkung nur bei chronisch futterreduzierten Mäusen signifikant, während bei akut futterreduzierten Mäusen kein Zusammenhang nachgewiesen werden konnte.

Durchschnittlich war der Körpergewichtsverlust der Mäuse unter beiden Futterreduktionsregimen trotz der unterschiedlichen Dauer der Experimente gleich groß, während die Körpertemperatur der Mäuse unter akuter Futterreduktion stärker absank. Die akute Futterreduktion stellte für die Mäuse folglich eine größere Belastung dar als die chronische Futterreduktion.

Insgesamt wies in Folge der akuten Futterreduktion ein höherer Prozentsatz von MML genotypische Unterschiede in der Kompensation des Energiedefizits auf. Weiterhin

konnte in Folge der akuten Futterreduktion bei sechs MML, die unter *ad libitum* Bedingungen keine signifikanten Unterschiede zwischen Mutanten und Kontrollen zeigten, ein neuer metabolischer Phänotyp festgestellt werden, während unter chronischer Futterreduktion ausschließlich MML auffällig wurden, die bereits unter *ad libitum* Bedingungen einen metabolischen Phänotyp zeigten. Die beiden MML, die in beiden Futterreduktionsregimen untersucht wurden, wiesen unter chronischer Futterreduktion keine Differenzen zwischen Mutanten und Kontrollen auf während sich unter akuter Futterreduktion die Mutanten beider Linien von den Kontrollen unterschieden. Das akute Futterreduktionsexperiment ist zudem zeit- und arbeitssparender als die chronische Futterreduktion. Zusammenfassend lässt sich sagen, daß die akute Futterreduktion für die Detektion von Phänotypen im Rahmen des metabolischen Screens besser geeignet ist als die chronische Futterreduktion.

Im dritten Teil der Arbeit wurde die detaillierte phänotypische Analyse der ENU-Mausmutantenlinie HWE007 besprochen. Das vergleichsweise hohe Körpergewicht der Mutanten lag in einem erhöhten Körperfettanteil begründet. Der Vergleich der metabolisierten Energie der Genotypen zeigte vergleichbare Werte von Mutanten und Kontrollen, so dass die Mutanten unter Berücksichtigung ihres hohen Körpergewichts vergleichsweise weniger Energie metabolisierten. Der Vergleich des Energieverbrauchs zeigte ebenfalls vergleichbare Werte von Mutanten und Kontrollen, so dass auf einen relativ niedrigeren Energieverbrauch der Mutanten geschlossen werden konnte. Der hohe Körperfettanteil der Mutanten resultierte aus einer positiven Energiebilanz, die vor allem im niedrigen Energieverbrauch der Mutanten begründet zu liegen scheint.

Weiterhin wiesen die Mutanten der MML HWE007 eine gestörte Glukoseclearance auf, was auf einen beginnenden Diabetes schließen lässt. Die Analyse des Blutbilds der HWE007-Mäuse zeigte ebenfalls genotypische Veränderungen, die mit einem erhöhten Körpergewicht assoziiert sind. Hierzu zählte beispielsweise eine erhöhte Gesamtcholesterinkonzentration der Mutanten.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die MML HWE007 eine geeignete Modelllinie für die Adipositasforschung darstellt.

6 Literaturverzeichnis

- ADAN RAH, TIESJEMA B, HILLEBRAND JJG, LA FLEUR SE, KAS MJH, DE KROM M** (2006) The MC4 receptor and control of appetite. *British Journal of Pharmacology* (149):815-827
- AGUSTSSON T, RYDÉN M, HOFFSTEDT J, VAN HARMELEN V, DICKER A, LAURENCIKIENE J, ISAKSSON B, PERMERT J, ARNER P** (2007) Mechanism of increased lipolysis in cancer cachexia. *Cancer Research* 67(11): 5531-5537
- ALBU J UND RAJA-KHAN N** (2003) The management of the obese diabetic patient. *Primary Care: Clinics in Office Practice* 30(2):465-491
- ALLISON DB, PAULTRE F, GORAN MI, POEHLMAN ET, HEYMSFIELD SB** (1995) Statistical considerations regarding the use of ratios to adjust data. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 19: 644-652
- ARCH JRS, HISLOP D, WANG SJY, SPEAKMAN JR** (2006) Some mathematical and technical issues in the measurement and interpretation of open-circuit indirect calorimetry in small animals. *International Journal of Obesity* 30: 1322-1331
- ARGMANN CA, CHAMPY MF, AUWERX J** (2006) Metabolic exploration of the mouse. *Current Protocols in Molecular Biology* 29B1.1-29B1.17
- ASTRUPA** (2001) Healthy lifestyles in Europe: prevention of obesity and typ II diabetes by diet and physical activity. *Public Health Nutrition* 4(2B): 499-515
- ATTELE AS, SHI ZQ, YUAN CS** Leptin, gut and food intake. *Biochemical Pharmacology* 63: 1579-1583
- AUSTAD SN UND KRISTAN DM** (2003) Are mice calorically restricted in nature? *Aging Cell* 2: 201-207
- AUSTIN CP, BATTEY JF, BRADLEY A, BUCAN M, CAPECCHI M, COLLINS FS, DOVE WF, DUYK G, DYMECKI S, EPPIG JT, GRIEDER FB, HEINTZ N, HICKS G, INSEL TR, JOYNER A, KOLLER BH, LLOYD KC, MAGNUSON T, MOORE MW, NAGY A, POLLOCK JD, ROSES AD, SANDS AT, SEED B, SKARNES WC, SNODDY J, SORIANO P, STEWART DJ, STEWART F, STILLMAN B, VARMUS H, VARTICOVSKI L, VERMA IM, VOGT TF, VON MELCHNER H, WITKOWSKI J, WOYCHIK RP, WURST W, YANCOPOULOS GD, YOUNG SG, ZAMBROWICZ B** (2004) The knockout mouse project. *Nature Genetics* 36:921-924
- BACHMANOV AA, REED DR, BEAUCHAMP GK, TORDOFF MG** (2002) Food intake, water intake, and drinking sprout side preference of 28 mouse strains. *Behavior Genetics* 32(6): 435-443
- BAILEY KR, RUSTAY NR, CRAWLEY JN** (2006) Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: practical concerns and potential pitfalls. *Ilar Journal* 47: 124-131

- BAILLE-HAMILTON PF** (2002) Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic. *Journal of Alternative and Complementary* 8(2): 185-192
- BALLING R** (2001) ENU mutagenesis: analyzing gene function in mice. *Annual Review of Genomics and Human Genetics* 2: 463-492
- BECK JA, LLOYD S, HEFAZPARAST M, LENNON-PIERCE M, EPPIG JT, FESTING MFW, FISHER EMC** (2000) Genealogies of mouse inbred strains. *Nature Genetics* (24):23-25
- BLUMBERG MS, SOKOLOFF G, KIRBY RF** (1997) Brown fat thermogenesis and cardiac rate regulation during cold challenge in infant rats. *American Journal of Physiology* 272: R1308-R1313
- BRANDA CS UND DYMECKI SM** (2004) Talking about a revolution: The impact of site-specific recombinases on genetic analyses in mice. *Developmental Cell* 6: 7-28
- BRAY GA, JABLONSKI KA, FUJIMOTO WY, BARRETT-CONNOR E, HAFFNER S, HANSON RL, HILL JO, HUBBARD V, KRISKA A, STAMM E, PI-SUNYER FX** (2008) Relation of central adiposity and body mass index to the development of diabetes in the Diabetes Prevention Program. *American Journal of Clinical Nutrition* 87(5):1212-8
- BRIELMEIER M, MAHABIR E, NEEDHAM JR, LENGGER C, WILHELM P, SCHMIDT J** (2006) Microbiological monitoring of laboratory mice and biocontainment in individually ventilated cages: a field study. *Laboratory Animals* 40(3): 247-260
- BROCKMANN GA UND BEVOVA MR** (2002) Using mouse models to dissect the genetics of obesity. *Trends in Genetics* 18(7): 367-376
- BROWN MJ UND MURRAY KA** (2006) Phenotyping of genetically engineered mice: Humane, ethical, environmental and husbandry issues. *Ilar Journal* 44(2): 118-123
- CALCUTT NA** (2004) Experimental models of painful diabetic neuropathy. *Journal of the Neurological Sciences* 220(1-2):137-139
- CANNON B UND NEDERGAARD J** (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological Reviews* 84: 277-359
- CAPELESS CG UND WHITNEY G** (1995) The genetic basis of preference for sweet substances among inbred strains of mice: Preference ratio phenotypes and the alleles of the *Sac* and *dpa* Loci. *Chemical Senses* 20(3): 291-298
- CHAMPY MF, SELLOUM M, PIARD L, ZEITLER V, CARADEC C, CHAMBON P, AUWERX J** (2004) Mouse functional genomics requires standardization of mouse handling and housing conditions. *Mammalian Genome* 15: 768-783

- CHAMPY MF, SELLOUM M, ZEITLER V, CARADEC C, JUNG B, ROUSSEAU S, POUILLY L, SORG T, AUWERX J** (2008) Genetic background determines metabolic phenotypes in the mouse. *Mammalian Genome* (Onlinepublikation vor Druck)
- CHANG B, HAWES NL, HURD RE, DAVISSON MT, NUSINOWITZ S, HECKENLIVELY JR** (2002) Retinal degeneration mutants in the mouse. *Vision Research* 42:517-525
- CHEN Y, HU C, HSU CK, ZHANG Q, BI C, ASNICAR M, HSIUNG HM, FOX N, SLIEKER LJ, YANG DD, HEIMAN ML, SHI Y** (2002) Targeted Disruption of the Melanin-Concentrating Hormone Receptor-1 Results in Hyperphagia and Resistance to Diet-Induced Obesity. *Endocrinology* 143(7): 2469–2477
- COLEMAN DL** (1978) Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia* 14: 141-148.
- COLEMAN DL** (1985) Increased metabolic efficiency in obese mutant mice. *International Journal of Obesity* 9(2): 69-73
- CRAWLEY JN, BELKNAP JK, COLLINS A, CRABBE JC, FRANKEL W, HENDERSON N, HITZEMANN RJ, MAXSON SC, MINER LL, SILVA AJ, WEHNER JM, WYNshaw-BORIS A, PAYLOR R** (1997) Behavioral phenotypes of inbred mouse strains: implications and recommendations for molecular studies. *Psychopharmacology* 132: 107-124
- DAVISSON MT** (1996) Rules for nomenclature of inbred strains. *Genetic variants and strains of the laboratory mouse*: 1532-1536 (Oxford University Press, Oxford)
- DHURANDHAR NV** (2001) Infectobesity: obesity of infectious origin. *J Nutr* 131(10): 2794S-2797S
- DELANY JP, HANSEN BC, BODKIN NL, HANNAH J, BRAY GA** (1999) Long-term calorie restriction reduces energy expenditure in aging monkeys. *Journals of Gerontology: Series A, Biological Sciences and Medical Sciences* 54(1): B5-13
- DÖRING H, SCHWARZER K, NUESSELEIN-HILDESHEIM B, SCHMIDT I** (1998) Leptin selectively increases energy expenditure of food-restricted lean mice. *International Journal of Obesity* 22: 83-88
- DROZDZ A** (1975): Food habits and food assimilation in mammals. In: *Methods for Ecological Bioenergetics*, Oxford, UK: Blackwell: 23-47
- EHRHARDT N, HELDMAIER G, EXNER C** (2005) Adaptive mechanisms during food restriction in *Acomys russatus* : the use of torpor for desert survival. *Journal of Comparative Physiology B* 175: 193-200
- ELVERT R, EHRHARDT N, TAUBE M, KLINGENSPOR M, GAILUS-DURNER V, FUCHS H, HRABE DE ANGELIS M, BLANQUET V, HELDMAIER G** (2006) Metabolic phenotyping of mouse mutants in the German Mouse Clinic. *Integrative Zoology* 1: 122-125

- ELVERT R, EHRHARDT N, TAUBE M, KALLNIK M, HÖLTER SM, MAHABIR E, KISSLING D, HRABÉ DE ANGELIS M, HELDMAIER G, SCHMIDT J, KLINGENSPOR M** (in Vorbereitung) Housing in individually ventilated cages differentially modulates energy balance in male C3HeB/FeJ and C57BL/6J mice.
- EXNER C, HEBEBRAND J, REMSCHMIDT H, WEWETZER C, ZIEGLER A, HERPERTZ S, SCHWEIGER U, BLUM WF, PREIBISCH G, HELDMAIER G, KLINGENSPOR M** (2000) Leptin suppresses semi-starvation induced hyperactivity in rats: implications for anorexia nervosa. *Molecular Psychiatry* 5: 476-481
- FAROOQI IS UND O'RAHILLY S** (2006) Genetics of obesity in humans. *Endocrine Reviews* 27(7): 710-718
- FESTING M** (1979) Animal models of obesity. The Macmillan Press LTD, London
- FREEMAN HC, HUGILL A, DEAR NT, ASHCROFT FM, COX RD** (2006) Deletion of Nicotinamide Nucleotide Transhydrogenase – A new Quantitative Trait Locus accounting for glucose intolerance in C57BL/6J mice. *Diabetes* 55: 2153-2156
- FUCHS H, SCHUGHART K, WOLF E, BALLING R, HRABÉ DE ANGELIS** (2000) Screening for dysmorphological abnormalities--a powerful tool to isolate new mouse mutants. *Mamalian Genome* 11:528-530
- FUCHS H, GAILUS-DURNER V, LENGGER C, NATON B, FERWAGNER B, ADLER T, AGUILAR-PIMENTEL JA, BECKER L, BOLLE I, BRIELMEIER M, CALZADA-WACK J, EHRHARDT N, DALKE C, GLASL S, HANS W, HÖLTER SM, HÖLZLWIMMER G, HORSCH M, JAVAHERI A, KALLNIK M, KLING E, MAIER H, MOßBRUGGER I, MÖRTH C, NÖTH U, PREHN C, PUK O, RACZ I, RATHKOLB B, ROZMAN J, SCHÄBLE K, SCHREINER R, SCHREWE A, STEINKAMP R, WILLERSHÄUSER M, ZEH R, ADAMSKI J, BUSCH DH, BECKERS J, BEHRENDT H, ESPOSITO I, FAVOR J, GRAW J, HELDMAIER G, HÖFLER H, IVANDIC B, KATUS H, KLINGENSPOR M, KLOPSTOCK M, SCHUGHART K, MEMPEL M, NESCHEN S, OLLERT M, QUINTANILLA-MARTINEZ L, SCHMIDT J, SCHULZ H, WOLF E, WURST W, ZIMMER A, HRABÉ DE ANGELIS M** (*submitted*) The German Mouse Clinic: A collaboration-based open access platform for systemic phenotype analysis of mouse models. *Submitted*
- GAILUS-DURNER V, FUCHS H, BECKER L, BOLLE I, BRIELMEIER M, CALZADA-WACK J, ELVERT R, EHRHARDT N, DALKE C, FRANZ TJ, GRUNDNER-CULEMANN E, HAMMELBACHER S, HÖLTER SM, HÖLZLWIMMER G, HORSCH M, JAVAHERI A, KALAYDJIEV S, KLEMP T, KLING E, KUNDER S, LENGGER C, LISSE T, MIJALSKI T, NATON B, PEDERSEN V, PREHN C, PRZEMECK G, RACZ I, REINHARD C, REITMEIR P, SCHNEIDER I, SCHREWE A, STEINKAMP R, ZYBILL C, ADAMSKI J, BECKERS J, BEHRENDT H, FAVOR J, GRAW J, HELDMAIER G, HÖFLER H, IVANDIC B, KATUS H, KIRCHHOF P, KLINGENSPOR M, KLOPSTOCK T, LENGELING A, MÜLLER W, OHL F, OLLERT M, QUINTANILLA-MARTINEZ L, SCHMIDT J, SCHULZ H, WOLF E, WURST W, ZIMMER A, BUSCH DH, HRABÉ DE ANGELIS M** (2005) Introducing the German Mouse Clinic: open access platform for standardized phenotyping. *Nature Methods* 2:403-404

- GANZ ML** (2003) The economic evaluation of obesity interventions: Its time has come. *Obesity Research* 11(11): 1275-1277
- GIACOSA A, FRASCIO F, SUKKAR SG, RONCELLA** (1996) Food intake and body composition in cancer cachexia. *Nutrition* 12(1 Suppl.): 20-23
- GLAZIER DS** (2005) Beyond the '3/4-power law': variation in the intra- and interspecific scaling of metabolic rate in animals. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 80: 611-662
- GOLDSTEIN JL** (2001) Laskers for 2001: knockout mice and test-tube babies. *Nature Medicine* 7: 1079-1080
- GOLOMBEK DA, ORTEGA G, CARDINALI DP** (1993) Wheel running raises body temperature and changes the daily cycle in golden hamsters. *Physiology and Behavior* 53:1049-1054
- GRUNDY SM** (2008) Metabolic syndrome pandemic. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 28(4):629-636.
- GUERRE-MILLO M** (2004) Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabetes and Metabolism* 30(1): 13-19
- HAMANN A, FLIER JS, LOWELL BB** (1996). Decreased brown fat markedly enhances susceptibility to diet-induced obesity, diabetes, and hyperlipidemia. *Endocrinology*, 137, 21-29.
- HAMBLY C UND SPEAKMAN JR** (2005) Contribution of different mechanisms to compensation for energy restriction in the mouse. *Obesity Research* 13(9): 1548-1557
- HANSEN J, FLOSS T, VAN SLOUN P, FUCHTBAUER EM, VAUTI F, ARNOLD HH, SCHNUTGEN F, WURST W, VON MELCHNER H, RUIZ P** (2003) A large-scale, gene-driven mutagenesis approach for the functional analysis of the mouse genome. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 100: 9918-9922
- HAUNER H, BUCHHOLZ G, HAMANN A, HUSEMANN B, KOLETZKO B, LIEBERMEISTER H, WABITSCH M, WESTENHÖFER J, WIRTH A, WOLFRAM G** (2006). *Prävention und Therapie der Adipositas - Evidenzbasierte Leitlinie*. <http://www.adipositas-gesellschaft.de>
- HEBEBRAND J, EXNER C, HEBEBRAND K, HOLTKAMP C, CASPER RC, REMSCHMIDT H, HERPERTZ-DAHLMANN B, KLINGENSPOR M** (2003) Hyperactivity in patients with anorexia nervosa and in semistarved rats: evidence for a pivotal role of hypoleptinemia. *Physiology and Behavior* 79: 25-37
- HELDMAIER G** (1975) Metabolic and thermoregulatory responses to heat and cold in the Djungarian hamster, *Phodopus sungorus*. *Journal of Comparative Physiology* 102: 115-122

- HELDMAIER G UND STEINLECHNER S** (1981) Seasonal control of energy requirements for thermoregulation in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus*), living in natural photoperiod. *Journal of Comparative Physiology* 142: 429-437
- HELDMAIER G AND BUCHBERGER A** (1985) Sources of heat during nonshivering thermogenesis in Djungarian hamsters: a dominant role of brown adipose tissue during cold adaptation. *Journal of Comparative Physiology B* 156: 237-245
- HELDMAIER G UND NEUWEILER G** (2004). *Vergleichende Tierphysiologie* (Band 2). Springer, Berlin
- HESEKER H UND SCHMID A** (2000) Epidemiologie der Adipositas. *Therapeutische Umschau* Band 57: 478-481
- HIMMS-HAGEN J** (1984) Brown adipose tissue thermogenesis, energy balance, and obesity. *Canadian Journal of Biochemistry and Cell Biology* 62(7): 610-617
- HIMMS-HAGEN J** (1985) Defective brown adipose tissue thermogenesis in obese mice. *International Journal of Obesity* 9(Suppl.): 17-24
- HRABÉ DE ANGELIS M, BALLING R** (1998) Large scale ENU screens in the mouse: genetics meets genomics. *Mutation Research* 400(1-2): 25-32
- HRABÉ DE ANGELIS MH, FLASWINKEL H, FUCHS H, RATHKOLB B, SOEWARTO D, MARSCHALL S, HEFFNER S, PARGENT W, WUENSCH K, JUNG M, REIS A, RICHTER T, ALESSANDRINI F, JAKOB T, FUCHS E, KOLB H, KREMMER E, SCHAEBLE K, ROLLINSKI B, ROSCHER A, PETERS C, MEITINGER T, STROM T, STECKLER T, HOLSBOER F, KLOPSTOCK T, GEKELER F, SCHINDEWOLF C, JUNG T, AVRAHAM K, BEHRENDT H, RING J, ZIMMER A, SCHUGHART K, PFEFFER K, WOLF E, BALLING R** (2000) Genome-wide, large-scale production of mutant mice by ENU mutagenesis. *Nature Genetics* 25: 444-447
- HOUSEKNECHT KL, BAILE CA, MATTERI RL, SPURLOCK ME** (1998) The biology of leptin: a review. *Journal of Animal Science* 76: 1405-1420
- HUMMEL KP, DICKIE MM, COLEMAN DL** (1966) Diabetes: a new mutation in the mouse. *Science* 153: 1127-1128
- HUMMEL KP, COLEMAN DL, LANE PW** (1972) The influence of genetic background on expression of mutations at the diabetes locus in the mouse: I. C57BL/KsJ and C57BL/6J strains. *Biochemical Genetics* 7(1): 1-13
- INGALLS AM, DICKIE MM, SNELL GD** (1950) Obese, a new mutation in the house mouse. *The Journal of Heredity* 41(12): 317-318
- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION** (2006) The IDF consensus worldwide definition of the Metabolic Syndrome. <http://www.idf.org>
- JÉQUIER E UND TAPPY L** (1999) Regulation of body weight in humans. *Physiological Reviews* 79(2): 451-472

- JOFFE D UND YANAGISAWA RT** (2007) Metabolic syndrome and type 2 diabetes: can we stop the weight gain with diabetes? *The Medical Clinics of North America* 91(6): 1107-23
- JUSTICE MJ** (2000) Capitalizing on large-scale mouse mutagenesis screens. *Nature Reviews Genetics* 1(2): 109-115
- KAKU K, FIEDOREK FT, PROVINCE M, PERMUTT MA** (1988) Genetic analysis of glucose tolerance in inbred mouse strains. *Diabetes* 37: 707-713
- KALLNIK M, ELVERT R, EHRHARDT N, KISSLING D, MAHABIR E, WELZL G, FAUS-KESSLER T, HRABÉ DE ANGELIS M, WURST W, SCHMIDT J, HÖLTER SM** (2007) Impact of IVC housing on emotionality and fear learning in male C3HeB/FeJ and C57BL/6J mice. *Mammalian Genome* 18: 173-186
- KEITH A. UND MARILL MD** (2004) Advanced statistics: Linear regression, part II: Multiple Linear Regression. *Academic Emergency Medicine* 11: 94-102
- KENT S, HURD M, SATINOFF E** (1991) Interactions between body temperature and wheel running over the oestrous cycle in rats. *Physiology and Behavior* 49:1079–1084
- KLAUS S, MÜNZBERG H, TRÜLOFF C, HELDMAIER G** (1998) Physiology of transgenic mice with brown fat ablation: obesity is due to lowered body temperature. *American Journal of Physiology* 274:R287-293
- KLAUS S** (2004) Adipose tissue as a regulator of energy balance. *Current Drug Targets* 5(3): 1-10
- KLEIBER M** (1961) *The fire of life*. John Wiley and Sons Inc. New York, London
- KLINGENSPOR M, XU P, COHEN RD, WELCH C, REUE K** (1999) Altered gene expression pattern in the fatty liver dystrophy mouse reveals impaired insulin-mediated cytoskeleton dynamics. *The Journal of Biological Chemistry* 274: 23078–23084
- KLINGENSPOR M** (2003). Cold-induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis. *Experimental Physiology* 88: 141-148
- KOIZUMI A, TSUKADA M, WADA Y, MASUDA H, WEINDRUCH R** (1992) Mitotic activity in mice is suppressed by energy restriction-induced torpor. *The Journal of Nutrition* 122(7): 1446-53
- KUHN R, STREIF S, WURST W** (2007) RNA interference in mice. *Handbook of Experimental Pharmacology* 178: 149-176
- KOUBI HE, ROBIN JP, DEWASMES G, LE MAHO Y, FRUTOSO J, MINAIREY** (1991) Fasting-induced rise in locomotor activity in rats coincides with increased protein utilization. *Physiology and Behavior* 50: 337–343
- KOPELMAN PG** (2000) Obesity as a medical problem. *Nature* 404: 635-643

- KRAFT V, DEENY A, BLANCHET H, BOOT R, HANSEN A, HEM A, VAN HERCK H, KUNSTYR I, MILITE G, NEEDHAM J, NICKLAS W, PERROT A, REHBINDER C, RICHARD Y, DE VROEY G** (1994) Recommendations for health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit breeding colonies. *Laboratory Animals* 28: 1-12
- KUCZMARSKI RJ, FLEGAL KM, CAMPBELL SM, JOHNSON CL** (1994) Increasing prevalence of overweight among US adults. The national health and nutrition examination surveys, 1960 1991. *JAMA* 272: 105-211
- LANDER ES, LINTON LM, BIRREN B, NUSBAUM C, ZODY MC, BALDWIN J, DEVON K, ET AL.** (2001) Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409:860-921
- LANE MA, BLACK A, HANDY A, TILMONT EM, INGRAM DK, ROTH GS** (2001) Caloric restriction in primates. *Annals of the New York Academy of Sciences* 928: 287-295
- LICHTMAN SW, PISARSKA K, BERMAN ER, PESTONE M, DOWLING H, OFFENBACHER E, WEISEL H, HESHKA S, MATTHEWS DE, HEYMSFIELD SB** (1992) Discrepancy between self-reported and actual caloric intake and exercise in obese subjects. *The New England Journal of Medicine* 327: 1893-1898
- LIGHTON JRB** (2008) *Measuring Metabolic Rates: A Manual for Scientists*. Oxford University Press, Inc. New York
- LINDER CC** (2006) Genetic variables that influence phenotype. *Ilar Journal* 47: 132-40
- LÖNNQVIST F, NORDFORS L, SCHALLING M** (1999) Leptin and its potential role in human obesity. *Journal of Internal Medicine* 245: 643-652
- LOWELL BB, SUSULIC V, HAMANN A, LAWITTS JA, HIMMS-HAGEN J, BOYER BB, KOZAK LP AND FLIER JS** (1993). Development of obesity in transgenic mice after genetic ablation of brown adipose tissue. *Nature* 366, 740-742
- MAGGIO CA UND PI-SUNYER FX** (2003) Obesity and type 2 diabetes. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 32: 805–822.
- MAHONEY LB, DENNY CA, SEYFRIED TN** (2006) Caloric restriction in C57BL/6J mice mimics therapeutic fasting in humans. *Lipids in Health and Disease* 5: 13
- MANSER CE, MORRIS TH, BROOM DM** (1995) An investigation into the effects of solid or grid cage flooring on the welfare of laboratory rats. *Laboratory Animals* 29: 353-363

- MARSH DJ, WEINGARTH DT, NOVI DE, CHEN HY, TRUMBAUER ME, CHEN AS, GUAN XM, JIANG MM, FENG Y, CAMACHO RE, SHEN Z, FRAZIER EG, YU H, METZGER JM, KUCA SJ, SHEARMAN LP, GOPAL-TRUTER S, MACNEIL DJ, STRACK AM, MACINTYRE DE, VAN DER PLOEG LHT, QIAN S (2002)** Melanin-concentrating hormone 1 receptor-deficient mice are lean, hyperactive, and hyperphagic and have altered metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99(5): 3240-3245
- MARTIN CK, HEILBRONN LK, DE JONGE L, DELANY JP, VOLAUFOVA J, ANTON SD, REDMAN LM, SMITH SR, RAVUSSIN E (2007)** Effect of caloric restriction on resting metabolic rate and spontaneous physical activity. *Obesity* 15(12): 2964-2973
- MATSUMOTO M UND ACCILI D (2006)** The tangled path to glucose production. *Nature Medicine* 12(1): 33-34
- MATSUZAWA Y, SHIMOMURA I, NAKAMURA T, KENO Y, KOTANI K, TOKUNAGA K (1995)** Pathophysiology and pathogenesis of visceral fat obesity. *Obesity Research* 3(2): 187S-194S
- MATTSON DL (2001)** Comparison of arterial blood pressure in different strains of mice. *American Journal of Hypertension* 14: 405-408
- MCCAY CM, CROWELL MF, MAYNARD LA (1935)** The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. *Journal of Nutrition* 10: 63-79
- MEYER CWE, KLINGENSPOR M, ROZMAN J, HELDMAIER G (2004)** Gene or size: Metabolic rate and body temperature in obese growth hormone-deficient dwarf mice. *Obesity Research* 12(9): 1509-1518
- MIHIC M UND MODI P (2008)** Metabolic syndrome - risk factors for atherosclerosis and diabetes. *Current Diabetes Reviews* 4(2):122-8
- MOORE JM (1999)** Utilization of mouse models in the discovery of human disease genes. *Drug Discovery Today* 4(3): 123-128
- NADEAU JH, BALLING R, BARSH G, BEIER D, BROWN SD, BUCAN M, CAMPER S, BROWN SDM, BUCAN M, CAMPER S, CARLSON G, COPELAND N, EPPIG J, FLETCHER C, FRANKEL WN, GANTEN D, GOLDOWITZ D, GOODNOW C, GUENET JL, HICKS G, HRABÉ DE ANGELIS M, JACKSON I, JACOB HJ, JENKINS N, JOHNSON D, JUSTICE M, KAY S, KINGSLEY D, LEHRACH H, MAGNUSON T, MEISLER M, POUSTKA AM, RINCHIK EM, ROSSANT J, RUSSELL LB, SCHIMENTI J, SHIROISHI T, SKARNES WC, SORIANO P, STANFORD W, TAKAHASHI JS, WURST W, ZIMMER A (2001)** Functional annotation of mouse genome sequences. *Science* 291:1251-1255
- NEEL JV (1962)** Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by progress? *American Journal of Human Genetics* 14: 353-362

- NICHOLLS DG UND LOCKE RM** (1984). Thermogenic mechanisms in brown fat. *Physiological Reviews* 64, 1-64
- NICKLAS W, BANEUX P, BOOT R, DECELLE T, DEENY AA, FUMANELLI M, ILLGEN-WILCKE B** (2002) Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals* 36: 20-42
- NOBREGA MA, PENNACCHIO LA** (2004) Comparative genomic analysis as a tool for biological discovery. *The Journal of Physiology* 554:31-39
- NOVEROSKE JK, WEBER JS, JUSTICE MJ** (2000) The mutagenic action of N-ethyl-N-nitrosourea in the mouse. *Mammalian Genome* 11(7): 478-83
- O'BRIEN TP, FRANKEL WN** (2004) Moving forward with chemical mutagenesis in the mouse. *Journal of Physiology* 554: 13-21
- O'BRIEN T AND WOYCHIK R** (2003) Our small relative. *Nature Genetics* 33:3-4
- OFFENHÄUSER N, CASTELLETTI D, MAPELLI L, SOPPO BE, REGONDI MC, ROSSI P, D'ANGELO E, FRASSONI C, AMADEO A, TOCCHETTI A, POZZI B, DISANZA A, GUARNIERI D, BETSHOLTZ C, SCITA G, HEBERLEIN U, DI FIORE PP** (2006) Increased ethanol resistance and consumption in Eps8 knockout mice correlates with altered actin dynamics. *Cell* 127(1): 213-226
- PACKARD GC UND BOARDMAN TJ** (1999) The use of percentages and size-specific indices to normalize physiological data for variation in body size: wasted time, wasted effort? *Comparative Biochemistry and Physiology A* 122: 37-44
- PÉRUSSE L, CHAGNON YC, WEISNAGEL J, BOUCHARD C** (1999) The human obesity gene map: the 1998 update. *Obesity Research* 7(1):111-129
- PICARD F, ANNICOTTE J, ROCCHI S, CHAMPY MF, O'MALLEY BW, CHAMBON P, AUWERX J** (2002) SRC1 and TIF2 control energy balance between white and brown adipose tissues. *Cell* 111:931-941
- PITTLER SJ UND BAEHR W** (1991) Identification of a nonsense mutation in the rod photoreceptor cGMP phosphodiesterase beta-subunit gene of the rd mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88: 8322-8326
- POPKIN B UND NIELSEN SJ** (2003) The sweetening of the world's diet. *Obesity Research* 11(11): 1325-1332
- PRPIC V, WATSON PM, FRAMPTON IC, SABOL MA, JEZEK GE, GETTYS TW** (2002) Adaptive Changes in adipocyte gene expression differ in AKR/J and SWR/J mice during diet-induced obesity. *The Journal of Nutrition* 132(11): 3325-3332
- RAMSEY JJ, HARPER ME, WEINDRUCH R** (2000) Restriction of energy intake, energy expenditure, and aging. *Free Radical Biology and Medicine* 29(10): 946-968

- REED DR, LAWLER MP, TORDOFF MG** (2008) Reduced body weight is a common effect of gene knockout in mice. *BioMed Central Genetics* 9(4)
- REUE K, XU P, WANG XP, SLAVIN BG** (2000) Adipose tissue deficiency, glucose intolerance, and increased atherosclerosis result from mutation in the mouse fatty liver dystrophy (fld) gene. *Journal of Lipid Research* 41(7): 1067–1076
- ROFFERS-AGARWAL J, XANTHOS JB, MILLER JR** (2005) Regulation of actin cytoskeleton architecture by Eps8 and Abi1. *BioMed Central Biology* 6: 36
- ROSEN ED UND SPIEGELMAN BM** (2006) Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 444: 847-853
- ROTH GS, INGRAM DK, LANE MA** (2001) Caloric restriction in primates and relevance to humans. *Annals of the New York Academy of Sciences* 928: 305-315
- RUSSELL LB** (1989) Reciprocal relationship between mouse germ-cell mutagenesis and basic genetics: from early beginnings to future opportunities. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 14 Suppl 16:23-9
- SAITO K, ARATA S, HOSONO T, SANO Y, TAKAHASHI K, CHOI-MIURA NH, NAKANO Y, TOBE T, TOMITA M** (2006) Adiponectin plays an important role in efficient energy usage under energy shortage. *Biochemica et Biophysica acta* 1761(7):709-16
- SCHRAUWEN P UND WESTERTEP KR** (2000) The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *British Journal of Nutrition* 84(4): 417-427
- SHARMA AM** (1998) The thrifty-genotype hypothesis and its implications for the study of complex genetic disorders in man. *Journal of Molecular Medicine* 76: 568-571
- SMITH BK, ANDREWS PK, WEST DB** (2000) Macronutrient selection in thirteen mouse strains. *American Journal of Physiology: Regulatory Integrative Comperative Physiology* 278(4): R797-R805
- SNELL GD UND REED S** (1993) William Ernest Castle, pioneer mammalian geneticist. *Genetics* 133: 751-753
- SOEWARTO D, FELLA C, TEUBNER A, RATHKOLB B, PARGENT W, HEFFNER S, MARSCHALL S, WOLF E, BALLING R, HRABÉ DE ANGELIS M** (2000) The large-scale Munich ENU-mouse-mutagenesis screen. *Mammalian Genome* 11(7): 507-510
- SOKOLOVIC M, WEHKAMP D, SOKOLOVIC A, VERMEULEN J, GILHUIS-PEDERSON LA, VAN HAAFTEN RIM, NIKOLSKY Y, EVELO CTA, VAN KAMPEN AHC, KAKVOORT TBM, LAMERS WH** (2007) Fasting induces a biphasic adaptive metabolic response in murine small intestine. *BioMed Central Genetics* 8(361)

- SOLBERG LC, VALDAR W, GAUGUIER D, NUNEZ G, TAYLOR A, BURNETT S, ARBOLEDAS-HITA C, HERNANDEZ-PLIEGO P, DAVIDSON S, BURNS P, BHATTACHARYA S, HOUGH T, HIGGS D, KLENERMAN P, COOKSON WO, ZHANG Y, DEACON RM, RAWLINS JNP, MOTT R, FLINT J** (2006) A protocol for high-throughput phenotyping, suitable for quantitative trait analysis in mice. *Mammalian Genome* 17: 129-146
- SOODINI GR** (2004) Adiponectin and leptin in relation to insulin sensitivity. *Metabolic Syndrome and Related Disorders* 2(2): 114-123
- SPIEGELMAN BM UND FLIER JS** (2001) Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 104: 531-543
- STANFORD WL, COHN JB, CORDES SP** (2001) Gene-trap mutagenesis: past, present and beyond. *Nature Reviews Genetics* 2: 756-768
- STAUFFACHER W, ORCI L, CAMERON DP, BURR IM, RENDD AE** (1971) Spontaneous hyperglycemia and/or obesity in laboratory rodents: an example of the possible usefulness of animal disease models with both genetic and environmental components. *Recent Progress in Hormone Research* 27: 41-91
- STEINLECHNER S, HELDMAIER G, BECKER H** (1983) The seasonal cycle of body weight in the Djungarian hamster: photoperiodic control and the influence of starvation and melatonin. *Oecologia* 60: 401-405
- STORER JB** (1967) Relation of lifespan to brain weight, body weight and metabolic rate among inbred mouse strains. *Experimental Gerontology* 2: 173-182
- SU Y, BALICE-GORDON RJ, HESS DM, LANDSMAN DS, MINARCIK J, GOLDEN J, HURWITZ I, LIEBHABER SA, COOKE NE** (2004) Neurobeachin is essential for neuromuscular synaptic transmission. *The Journal of Neuroscience* 24(14): 3627-3636
- SVENSON KL, VON SMITH R, MAGNANI PA, SUETIN HR, PAIGEN B, NAGGERT JK, LI R, CHURCHILL GA, PETERS LL** (2007) Multiple trait measurements in 43 inbred mouse strains capture the phenotypic diversity characteristic of human populations. *Journal of Applied Physiology* 102 (6):2369-2678
- SWINBURN BA** (1996) The thrifty genotype hypothesis: how does it look after 30 years? *Diabetic Medicine* 13: 695-699
- TARTAGLIA LA, DEMBSKI M, WENG X, DENG N, CULPEPPER J, DEVOS R, RICHARDS GJ, CAMPFIELD LA, CLARK FT, DEEDS J** (1995) Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 83: 1263-1271
- VIDAL-PUIG A UND O'RAHILLY** (2001) Controlling the glucose factory. *Nature* 413: 125-126
- VENTER JC, ADAMS MD, MYERS EW, LI PW, MURAL RJ, SUTTON GG, SMITH HO, ET AL.** (2001) The sequence of the human genome. *Science* 291:1304-1351

- WANG X, HERBERG FW, LAUE MM, WULLNER C, HU B, PETRASCH-PARWEZ E, KILIMANN MW** (2000) Neurobeachin: A protein kinase A-anchoring, beige/Chediak-higashi protein homolog implicated in neuronal membrane traffic. *Journal of Neuroscience* 20(23): 8551-8565
- WEBB GP, JAGOT SA, JAKOBSON ME** (1982). Fasting-induced torpor in mus musculus and its implications in the use of murine models for human obesity studies. *Comparative Biochemistry and Physiology A72*, 211-219.
- WEINDRUCH R** (1996) The retardation of aging by caloric restriction: studies in rodents and primates. *Toxicologic Pathology* 24(6): 742-745
- WEINERT D UND WATERHOUSE J** (1998) Diurnally changing effects of locomotor activity on body temperature in laboratory mice. *Physiology and Behavior* 63: 837-843
- WEST DB, WAGUESPACK J, MCCOLLISTER S** (1995) Dietary obesity in the mouse: interaction of strain with diet composition. *American Journal of Physiology* 268: R658-R665
- WEST DB UND YORK B** (1998) Dietary fat, genetic predisposition, and obesity: lessons from animal models. *The American Journal of Clinical Nutrition* 67(3): 505S-512S
- WORLD HEALTH ORGANISATION** (2006) Obesity and overweight. Fact sheet No. 311; <http://www.who.int>
- WHITE CR UND SEYMOUR RS** (2003) Mammalian basal metabolic rate is proportional to body mass^{2/3}. *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 100(7): 4046-4049
- WYATT SB, WINTERS KP, DUBBERT PM** (2006) Overweight and obesity: Prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem. *American Journal of the Medical Sciences* 331: 166-174
- YOSHIKI A UND MORIWAKI K** (2006) Mouse phenome research: implications of genetic background. *Ilar Journal* 47: 94-102
- ZETTEL ML, FRISINA RD, HAIDER S, O'NEILL WE** (1997) Age-related changes in calbindin D-28k and calretinin immunoreactivity in the inferior colliculus of CBA/CaJ and C57Bl/6 mice. *Journal of Comparative Neurology* 386: 92-110
- ZHANG Y, PROENCAR R, MAFFEI M, BARONE M, LEOPOLD L, JM FRIEDMAN** (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372: 425-432

7 ANHANG

Tab I:

Daten der MML unter *ad libitum* Bedingungen

Mittelwerte aller Mausmutantenlinien, die den *Primärscreen* der GMC durchlaufen haben.

Körpergewicht (BM), Körpertemperatur ($T_{b,rec}$), metabolisierte Energie (E_{met}), Assimilationseffizienz (F_{ass}).

<i>ad libitum</i>				BM (g)		$T_{b,rec}$ (°C)		E_{met} (kJ g ⁻¹)		F_{ass} (%)	
Linie	Sex	Genotyp	n	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM	MW	SEM
A008A01	m	wt	7	40.9	0.7	36.3	0.1	60.58	2.05	81.3	0.5
A008A01	m	hom	7	30.8	0.7	36.3	0.1	56.11	1.96	80.1	0.6
A008A01	w	wt	7	27.5	1.3	37.1	0.1	38.29	2.50	77.1	0.6
A008A01	w	hom	7	26.5	0.9	37.0	0.1	41.03	2.24	77.6	0.7
ABE1	m	wt	7	39.5	1.2	35.8	0.1	95.61	1.46	89.1	0.3
ABE1	m	het	7	33.9	1.2	35.4	0.1	90.65	2.12	89.6	0.2
ABE1	w	wt	7	37.1	1.1	35.7	0.0	78.04	2.21	87.4	0.3
ABE1	w	het	7	33.0	1.0	35.2	0.1	74.14	3.83	87.6	0.5
ABE2	m	wt	7	36.1	1.8	36.9	0.1	58.58	3.86	84.9	0.7
ABE2	m	het	7	32.5	1.0	37.2	0.1	51.70	1.57	84.3	0.1
ABE2	w	wt	7	40.1	1.3	37.5	0.1	78.65	5.71	86.2	0.5
ABE2	w	het	7	30.2	1.5	37.4	0.1	74.50	3.28	87.8	0.4
ABE012	m	wt	7	34.7	0.6	36.2	0.1	53.31	3.67	79.3	1.0
ABE012	m	hom	7	28.3	0.4	36.2	0.1	51.03	2.15	81.0	0.7
ABE012	w	wt	7	28.4	1.2	36.6	0.1	49.33	1.94	81.5	0.5
ABE012	w	hom	7	23.0	0.4	36.3	0.1	48.08	1.47	82.9	0.3
ABE17	m	wt	32	39.8	0.7	36.9	0.1	62.95	1.76	83.3	0.3
ABE17	m	het	35	28.4	0.5	36.4	0.1	55.54	1.25	84.0	0.3
ABE17	w	wt	30	39.0	0.6	37.0	0.1	60.16	1.90	82.2	0.4
ABE17	w	het	37	23.7	0.4	36.4	0.1	50.56	1.32	83.8	0.4
AFP1	m	wt	7	40.7	0.8	37.4	0.1	68.94	3.41	74.5	0.8
AFP1	m	hom	7	41.8	2.0	37.2	0.1	67.90	4.25	75.7	0.8
AFP1	w	wt	7	32.3	0.8	37.3	0.1	44.30	2.27	73.5	0.7
AFP1	w	hom	6	34.4	2.1	37.3	0.1	53.11	2.86	74.9	1.6
AGA002	m	wt	7	32.8	0.6	36.0	0.1	59.45	1.87	77.2	0.3
AGA002	m	hom	7	21.9	0.6	35.7	0.1	40.61	3.85	75.0	1.7
AGA002	w	wt	7	34.0	1.0	36.4	0.0	69.34	1.47	78.6	0.4
AGA002	w	hom	7	20.8	0.5	36.0	0.1	63.69	4.85	80.5	0.7
Ali027	m	wt	7	38.7	0.4	37.0	0.1	57.15	1.29	80.0	0.4
Ali027	m	het	7	38.3	1.1	36.9	0.1	55.03	1.48	80.7	0.5
Ali027	w	wt	7	38.4	0.9	37.4	0.1	57.52	2.34	81.8	0.5
Ali027	w	het	6	38.1	1.1	37.2	0.1	56.04	2.48	81.4	0.5
Ali18	m	wt	7	33.9	1.0	35.5	0.1	48.03	1.15	78.5	0.3
Ali18	m	hom	7	25.0	0.5	35.0	0.1	41.53	1.07	78.4	0.3
Ali18	w	wt	7	33.4	1.1	36.0	0.1	63.74	2.79	80.1	0.2
Ali18	w	hom	6	22.5	1.2	35.7	0.1	49.16	1.49	81.5	0.5
ALI22	m	wt	7	37.7	1.1	36.7	0.1	57.14	2.53	83.8	0.2
ALI22	m	het	7	41.2	0.7	36.7	0.1	56.78	2.62	83.6	0.3
ALI22	w	wt	7	36.8	1.0	37.1	0.0	48.66	2.90	82.0	0.5
ALI22	w	het	7	41.0	0.5	37.1	0.0	51.06	1.90	82.9	0.3
Ali35	m	wt	7	36.6	1.7	37.0	0.1	78.03	2.10	83.0	0.5
Ali35	m	hom	6	29.6	1.8	36.6	0.1	69.06	3.19	82.8	0.3
Ali35	w	wt	7	36.0	0.8	37.0	0.1	76.27	2.87	81.7	0.4
Ali35	w	hom	7	29.0	1.3	36.7	0.2	69.65	2.55	82.3	0.5
Arl4	m	wt	6	32.1	1.0	36.2	0.2	63.84	4.34	81.5	0.4
Arl4	m	hom	7	30.8	0.5	36.5	0.1	66.71	1.93	80.9	0.7
Arl4	w	wt	7	22.3	0.4	36.6	0.1	56.34	4.46	84.6	2.3
Arl4	w	hom	7	23.2	0.9	36.8	0.1	54.96	3.15	82.6	1.0

ATE001	m	wt	7	39.3	1.1	36.2	0.1	59.14	2.33	85.3	0.6
ATE001	m	het	7	33.8	0.9	36.0	0.1	55.71	3.32	86.0	0.4
ATE001	w	wt	7	36.2	1.4	36.7	0.1	65.23	4.98	86.3	0.6
ATE001	w	het	7	31.1	1.1	36.3	0.1	55.31	3.70	86.5	0.6
ATE2	m	wt	6	40.3	1.2	36.6	0.1	62.15	1.79	86.1	0.2
ATE2	m	het	6	32.8	1.5	36.1	0.1	54.34	5.78	84.0	1.6
ATE2	w	wt	7	40.1	1.1	37.2	0.2	62.68	2.21	87.9	0.3
ATE2	w	het	7	31.7	2.5	37.0	0.1	58.10	2.14	87.2	0.7
C1orf37beta	m	wt	7	29.0	0.9	36.8	0.2	48.30	2.44	77.4	1.1
C1orf37beta	m	het	6	28.7	0.8	36.5	0.1	46.55	2.51	79.3	0.9
C1orf37beta	w	wt	5	21.2	0.5	37.2	0.1	38.38	1.88	77.5	0.1
C1orf37beta	w	het	7	21.3	0.3	37.5	0.1	38.51	1.36	78.0	0.3
C3H/Pde6b+	m	wt	7	37.1	0.9	36.7	0.1	45.83	1.08	75.1	0.3
C3H/Pde6b+	m	hom	7	33.7	1.0	36.3	0.1	43.17	1.23	75.8	0.1
C3H/Pde6b+	w	wt	7	34.2	1.1	37.1	0.1	49.93	0.82	76.3	0.2
C3H/Pde6b+	w	hom	7	33.7	1.0	36.3	0.1	43.17	1.23	75.8	0.1
CCR1/CCR5	m	wt	7	27.9	0.6	36.4	0.1	60.66	0.84	78.1	0.3
CCR1/CCR5	m	hom	7	28.0	0.5	36.5	0.1	58.35	2.15	78.5	0.4
CCR1/CCR5	w	wt	7	23.4	0.3	37.1	0.1	59.43	1.70	78.1	0.4
CCR1/CCR5	w	hom	7	23.3	0.5	37.1	0.1	61.68	0.79	78.6	0.2
Cin 85	m	wt	13	34.8	0.8	36.7	0.1	45.01	4.04	79.7	0.7
Cin 85	m	hom	13	34.7	1.0	36.8	0.1	54.92	4.99	80.3	1.3
Cin 85	w	wt	13	26.4	0.8	37.2	0.1	46.26	2.16	79.5	0.5
Cin 85	w	hom	13	26.7	0.7	37.3	0.1	51.28	1.60	78.7	0.4
Cs7	m	wt	7	29.8	1.0	36.9	0.1	55.47	2.28	79.9	0.5
Cs7	m	hom	7	30.1	0.9	36.9	0.2	54.17	1.36	80.1	0.5
Cs7	w	wt	7	24.5	0.4	37.3	0.1	52.72	2.45	79.4	0.3
Cs7	w	hom	7	25.1	0.7	37.5	0.1	53.56	0.97	80.5	0.9
Dea3	m	wt	6	40.0	0.5	36.4	0.1	58.72	2.81	81.1	0.5
Dea3	m	hom	6	36.3	1.3	36.4	0.1	54.63	5.08	81.0	0.4
Dea3	w	wt	7	36.1	1.0	37.3	0.1	58.83	2.08	81.4	0.3
Dea3	w	hom	6	38.6	1.5	37.1	0.1	63.60	4.72	81.7	0.9
Delta1	m	wt	7	30.5	0.8	36.6	0.2	51.91	2.85	79.5	0.4
Delta1	m	het	6	27.9	0.6	36.5	0.1	50.95	3.62	79.7	0.3
Delta1	w	wt	7	23.7	0.5	36.5	0.1	45.39	1.41	81.9	0.3
Delta1	w	het	7	21.7	0.5	36.4	0.1	46.54	1.44	82.6	0.3
DKK3	m	wt	5	35.0	1.3	37.3	0.1	54.68	1.23	80.7	0.4
DKK3	m	hom	6	32.8	1.6	37.0	0.1	56.89	1.80	81.5	0.3
DKK3	w	wt	7	27.6	1.1	37.6	0.1	52.10	1.89	82.2	0.6
DKK3	w	hom	6	28.4	1.0	37.7	0.1	51.16	2.13	82.3	0.3
DLG3	m	wt	6	32.7	2.0	36.4	0.1	48.59	2.06	84.3	0.6
DLG3	m	hom	6	31.0	1.9	36.6	0.1	52.04	2.98	85.0	0.3
DLG3	w	wt	6	23.4	0.9	36.8	0.1	41.34	2.22	85.7	0.4
DLG3	w	hom	5	23.3	0.9	36.9	0.2	43.68	1.81	85.5	0.4
Dil1	m	wt	7	35.8	0.6	36.8	0.2	56.61	1.20	79.1	0.3
Dil1	m	het	7	27.7	0.7	36.8	0.2	53.56	0.61	80.0	0.3
Dil1	w	wt	7	28.3	1.3	37.6	0.1	51.68	2.54	77.2	0.5
Dil1	w	het	5	23.4	0.6	37.2	0.1	41.90	0.82	76.9	0.3
DMBT1	m	wt	5	34.0	1.5	36.7	0.2	58.78	4.05	83.6	0.7
DMBT1	m	hom	7	34.7	2.2	36.4	0.1	50.78	3.76	83.5	0.9
DMBT1	w	wt	4	27.8	2.2	36.9	0.1	46.87	2.63	82.6	0.8
DMBT1	w	hom	4	27.6	1.8	36.7	0.1	51.17	4.00	83.3	0.5
DNaseX	m	wt	7	29.4	0.6	35.1	0.2	52.17	1.01	82.5	0.6
DNaseX	m	hom	6	33.8	2.0	35.2	0.2	58.30	2.75	84.0	0.4
DNaseX	w	wt	7	22.8	0.9	36.0	0.2	54.44	1.88	83.4	0.3
DNaseX	w	hom	7	24.2	0.7	35.9	0.1	59.70	1.37	83.2	0.6
Drasic	m	wt	7	30.8	1.1	37.0	0.1	61.71	3.68	83.6	0.8
Drasic	m	hom	7	26.0	1.0	36.6	0.1	38.70	4.40	77.6	3.4
Drasic	w	wt	6	22.5	0.8	37.4	0.1	56.60	8.17	83.6	1.0

Drasic	w	hom	7	20.8	0.5	36.9	0.1	46.77	4.49	81.6	0.6
Elastin	m	wt	6	24.5	0.1	37.2	0.1	44.69	0.68	85.7	0.2
Elastin	m	hom	7	24.8	0.6	36.9	0.1	39.58	1.51	85.3	0.3
EPS15	m	wt	7	32.4	0.5	36.6	0.2	49.24	1.11	80.0	0.3
EPS15	m	hom	7	32.1	0.2	36.3	0.1	47.34	1.63	80.0	0.3
EPS15	w	wt	7	23.8	0.5	37.2	0.1	41.74	1.59	80.1	0.7
EPS15	w	hom	7	24.1	0.3	37.1	0.1	45.32	3.10	80.3	0.9
EPS8	m	wt	7	27.9	0.7	37.6	0.1	37.80	1.42	72.6	0.6
EPS8	m	hom	7	27.2	0.9	37.2	0.1	35.71	1.52	71.4	0.6
EPS8	w	wt	7	22.3	0.5	37.4	0.1	39.47	1.65	76.1	0.3
EPS8	w	hom	6	21.2	0.5	37.6	0.1	38.46	0.97	76.0	0.3
ESCP	m	wt	7	35.8	0.6	36.1	0.1	64.35	2.15	85.8	0.5
ESCP	m	hom	7	40.7	1.9	35.9	0.1	64.24	2.33	84.3	0.5
ESCP	w	wt	7	24.7	1.0	36.5	0.1	48.73	1.47	82.7	0.4
ESCP	w	hom	7	28.7	1.8	36.5	0.1	50.49	2.31	83.6	0.6
Eya3	m	wt	6	26.2	0.7	36.6	0.2	39.34	2.08	78.8	0.4
Eya3	m	hom	6	24.6	0.8	36.8	0.1	40.94	0.50	78.7	0.3
Eya3	w	wt	7	20.9	0.6	37.2	0.1	37.65	1.21	77.2	0.4
Eya3	w	hom	6	20.1	0.6	37.3	0.1	38.16	0.86	79.0	0.4
EYL	m	wt	7	30.7	1.2	36.9	0.1	61.88	3.75	83.6	0.4
EYL	m	hom	6	28.0	1.2	37.8	0.3	52.38	3.07	82.4	1.2
EYL	w	wt	6	35.8	1.6	37.2	0.1	56.88	2.31	81.6	0.2
EYL	w	hom	6	24.4	0.6	37.8	0.3	52.07	1.97	81.9	0.7
FasL	m	wt	7	29.0	0.5	36.3	0.1	41.31	1.33	77.5	0.4
FasL	m	hom	7	30.0	1.7	36.6	0.1	43.64	1.74	77.3	0.6
FasL	w	wt	7	22.1	0.3	37.3	0.1	40.21	2.21	79.0	1.1
FasL	w	hom	7	23.6	0.5	37.3	0.0	42.07	0.56	79.1	0.5
FFM1017	m	wt	7	31.3	0.9	34.7	0.1	46.64	2.17	80.5	0.9
FFM1017	m	hom	7	32.2	1.1	34.7	0.1	44.07	1.43	78.2	0.3
FFM1017	w	wt	7	22.9	0.8	35.7	0.1	42.35	2.21	80.2	0.7
FFM1017	w	hom	7	23.4	0.8	35.4	0.1	39.28	2.18	80.1	0.7
Fin13	m	wt	6	32.4	1.4	36.3	0.1	68.62	1.98	90.3	1.4
Fin13	m	hom	7	32.0	1.5	36.4	0.2	68.77	4.02	90.7	1.0
Fin13	w	wt	7	28.1	1.5	36.8	0.1	59.15	4.35	90.6	0.6
Fin13	w	wt	8	22.8	1.6	37.0	0.1	50.96	3.00	90.0	0.5
FoxP2	m	wt	7	29.2	0.4	36.8	0.2	33.81	0.92	75.8	0.3
FoxP2	m	hom	7	28.9	1.0	36.7	0.1	40.11	0.90	77.2	0.4
FoxP2	w	wt	5	24.7	0.5	37.6	0.1	34.72	1.79	75.5	0.7
FoxP2	w	hom	4	25.0	1.1	37.6	0.2	36.12	2.55	76.2	0.3
GAMT167	m	wt	10	29.4	0.5	35.7	0.1	59.77	1.81	81.3	0.4
GAMT167	m	hom	10	28.6	0.7	35.6	0.1	57.34	1.82	81.1	0.9
GAMT167	w	wt	4	24.3	0.6	37.6	0.1	46.18	4.28	80.5	0.2
GAMT167	w	hom	7	20.3	0.3	37.6	0.1	39.39	1.09	78.9	0.4
Glut8	m	wt	7	29.7	0.8	35.3	0.2	47.37	1.94	77.7	0.4
Glut8	m	hom	6	28.7	1.0	35.3	0.3	49.04	4.90	78.9	1.0
Glut8	w	wt	7	22.0	0.8	35.7	0.1	50.13	3.30	81.6	0.7
Glut8	w	hom	7	23.8	0.8	35.6	0.1	52.71	4.58	82.7	0.7
GSK3beta	m	wt	7	29.4	0.9	36.7	0.1	38.15	2.88	77.7	0.5
GSK3beta	m	hom	7	25.1	0.6	36.5	0.2	32.12	1.82	77.5	0.7
GSK3beta	w	wt	6	24.9	1.0	37.4	0.1	33.66	1.63	77.6	0.5
GSK3beta	w	hom	7	19.0	1.0	37.1	0.2	32.25	1.67	79.5	0.6
HDAC2	w	wt	7	23.9	1.7	36.7	0.2	41.05	3.25	76.7	0.3
HDAC2	w	hom	7	21.9	1.3	36.4	0.1	41.81	2.53	77.8	0.4
HDAC2	m	wt	6	33.2	1.0	36.2	0.2	46.39	1.88	77.6	0.5
HDAC2	m	hom	6	24.9	0.9	36.2	0.2	45.89	1.68	78.0	0.8
HDS17B7	m	wt	7	32.3	0.6	36.8	0.1	40.63	1.26	77.4	0.3
HDS17B7	m	het	7	31.3	1.2	36.8	0.2	41.11	0.86	77.1	0.4
HDS17B7	w	wt	7	28.0	2.1	37.1	0.1	45.01	2.31	77.8	0.5
HDS17B7	w	het	6	24.8	0.8	37.1	0.1	44.35	1.57	77.9	0.4

HSD17B2	m	wt	7	32.8	1.0	36.4	0.1	50.14	1.14	79.1	0.3
HSD17B2	m	het	7	35.0	1.3	36.3	0.2	48.35	1.52	80.0	0.3
HSD17B2	w	wt	7	25.6	0.2	36.7	0.1	50.58	1.56	78.7	0.3
HSD17B2	w	het	7	26.0	0.7	36.7	0.1	50.44	2.62	78.7	0.5
HST001	m	wt	7	37.5	1.0	36.5	0.1	50.60	2.38	81.5	0.4
HST001	m	het	7	30.0	0.6	35.9	0.1	60.95	7.74	83.5	1.2
HST001	w	wt	7	36.5	2.0	37.0	0.1	49.20	2.90	80.2	0.5
HST001	w	het	7	26.5	0.2	36.1	0.2	44.24	1.70	81.0	0.6
HST009	m	wt	7	40.0	1.1	36.3	0.1	57.48	1.73	79.1	1.1
HST009	m	hom	7	33.0	0.4	36.2	0.0	51.27	4.20	77.0	1.7
HST009	w	wt	7	36.2	1.3	36.6	0.0	54.91	1.74	78.3	0.4
HST009	w	hom	7	31.7	1.3	36.7	0.1	56.44	3.54	80.7	1.8
Ins15	m	wt	5	35.3	1.1	35.9	0.1	56.80	4.11	79.4	0.9
Ins15	m	hom	7	31.8	1.6	35.8	0.1	56.09	4.21	77.9	1.2
Ins15	w	wt	7	26.2	1.0	35.6	0.1	36.34	1.52	77.0	0.5
Ins15	w	hom	7	25.9	1.1	35.3	0.1	31.60	2.10	77.1	0.6
KTA041	m	wt	7	41.4	0.7	37.0	0.1	67.45	1.97	82.0	0.4
KTA041	m	hom	5	27.6	0.8	36.6	0.1	56.95	2.97	82.0	0.4
KTA041	w	wt	7	38.6	0.9	37.1	0.1	65.98	2.20	82.0	0.2
KTA041	w	hom	6	26.5	1.2	37.0	0.1	57.33	1.12	81.9	0.5
Lrba	m	wt	6	30.1	0.9	35.1	0.3	48.27	1.91	76.9	0.4
Lrba	m	hom	3	32.9	1.7	34.9	0.1	54.18	1.44	78.9	0.2
Lrba	w	wt	6	25.7	0.9	35.4	0.1	62.24	3.11	82.2	1.0
Lrba	w	hom	6	23.2	1.2	35.4	0.1	58.86	3.01	82.9	0.8
M076C04	m	wt	7	29.8	0.6	36.3	0.2	47.58	3.12	79.8	1.5
M076C04	m	hom	8	28.6	0.8	35.8	0.2	48.16	2.52	81.3	0.3
M076C04	w	wt	7	22.8	1.1	36.2	0.3	43.89	1.43	81.5	1.0
M076C04	w	hom	6	21.9	0.3	35.7	0.1	47.53	1.26	82.9	0.2
MAG	m	wt	9	28.1	0.7	36.4	0.2	56.09	2.12	84.5	0.4
MAG	m	hom	9	26.4	0.6	36.4	0.2	56.25	1.43	83.6	0.3
MAG	w	wt	6	21.6	0.8	36.8	0.2	50.52	1.35	85.3	0.4
MAG	w	hom	10	21.0	0.6	36.8	0.1	49.66	2.45	84.5	0.4
Mchr1	m	wt	7	31.1	0.9	37.4	0.2	54.76	2.77	80.7	0.4
Mchr1	m	hom	6	32.9	1.8	37.4	0.2	58.94	3.38	81.5	0.6
Mchr1	w	wt	6	27.2	0.3	37.4	0.1	32.06	2.55	80.0	0.9
Mchr1	w	hom	5	24.7	0.9	37.6	0.1	41.17	4.56	81.2	0.9
MCT8	m	wt	7	35.4	1.3	37.1	0.2	56.36	2.12	76.9	1.0
MCT8	m	hom	6	33.6	1.8	37.2	0.2	55.02	1.54	77.8	0.5
MCT8	w	wt	7	26.3	1.0	37.3	0.1	36.60	3.16	78.2	1.1
MCT8	w	hom	7	24.8	0.3	37.1	0.1	38.21	1.13	75.0	0.6
Medane1	m	wt	10	30.5	0.6	35.5	0.1	75.24	2.21	89.6	0.2
Medane1	m	hom	7	25.4	0.9	35.2	0.1	69.91	3.42	89.9	0.2
Medane1	w	wt	8	23.6	0.7	35.8	0.2	68.54	1.02	89.6	0.1
Medane1	w	hom	6	21.9	1.3	35.5	0.1	65.94	2.19	90.2	0.6
MFP2	w	wt	12	27.0	0.6	37.3	0.1	67.94	3.38	87.5	0.4
MFP2	w	hom	13	20.2	0.9	36.7	0.2	57.00	2.52	89.2	0.7
MFP2	m	wt	15	34.1	1.0	36.5	0.2	68.54	3.00	82.4	2.0
MFP2	m	hom	14	24.0	1.1	34.5	0.2	44.65	3.79	82.7	1.8
Miz1	m	wt	7	28.6	0.6	36.1	0.1	52.88	2.16	85.5	0.4
Miz1	m	hom	4	28.1	1.4	36.4	0.1	56.12	5.09	86.9	0.9
Miz1	w	wt	6	22.2	0.8	36.8	0.0	50.85	4.28	85.8	0.6
Miz1	w	hom	7	22.0	0.7	36.9	0.1	54.24	3.47	88.3	0.9
MTO1	m	wt	7	31.6	1.5	37.3	0.2	49.66	4.01	74.8	1.3
MTO1	m	hom	7	27.4	0.9	37.6	0.2	44.15	2.45	74.8	1.0
MTO1	w	wt	6	24.9	1.2	37.7	0.1	38.10	2.57	74.7	1.1
MTO1	w	hom	6	22.0	1.7	37.2	0.1	39.15	5.41	77.1	1.2
NADH	m	wt	7	33.2	1.2	37.2	0.1	63.82	2.41	86.6	0.3
NADH	m	hom	7	31.5	1.4	37.1	0.2	64.38	2.57	86.6	0.4
NADH	w	wt	7	23.2	0.5	37.1	0.1	49.33	2.11	85.2	0.3

NADH	w	hom	6	24.2	0.9	37.2	0.1	51.93	3.46	84.9	0.7
Nbea	m	wt	7	30.7	1.2	35.8	0.1	49.51	2.86	79.5	0.3
Nbea	m	hom	7	34.2	1.2	36.0	0.1	59.10	2.17	80.5	0.5
Nbea	w	wt	7	23.2	1.2	36.5	0.1	45.65	2.80	79.9	1.0
Nbea	w	hom	7	26.7	1.3	36.5	0.1	46.15	1.85	79.0	0.3
NCAM	m	wt	8	33.7	1.5	36.6	0.2	62.02	3.46	84.9	0.5
NCAM	m	het	6	29.3	0.4	36.5	0.1	55.63	3.53	82.7	1.0
NCAM	m	hom	8	28.2	0.8	36.7	0.2	61.19	1.35	85.6	0.3
NCAM	w	wt	14	22.9	0.4	37.2	0.1	53.51	1.85	85.1	0.4
NCAM	w	het	3	24.1	0.7	36.8	0.2	49.20	0.74	82.8	0.3
NCAM	w	hom	8	21.5	0.4	37.2	0.2	53.94	3.26	86.1	0.5
Nes-Cre	w	wt	6	25.2	1.1	36.2	0.1	38.50	1.75	81.9	0.9
Nes-Cre	w	hom	7	27.8	2.0	36.3	0.1	43.50	3.58	81.8	1.1
Neuch	m	wt	7	32.9	1.6	35.7	0.1	53.13	1.89	84.7	0.3
Neuch	m	het	9	33.4	1.4	35.4	0.1	54.89	2.85	85.1	0.3
Neuch	m	hom	8	26.8	1.7	35.8	0.2	54.58	2.13	87.2	0.9
Neuch	w	wt	3	29.3	4.1	36.4	0.2	49.51	2.84	85.7	1.2
Neuch	w	het	7	30.2	1.6	35.7	0.2	49.18	4.82	85.9	0.9
Neuch	w	hom	6	22.3	0.6	35.8	0.1	47.85	3.26	84.6	0.7
p0071	m	wt	6	29.1	0.8	37.1	0.2	53.76	2.96	83.5	0.9
p0071	m	hom	6	28.8	1.4	37.3	0.1	53.35	1.77	84.3	0.5
p0071	w	wt	6	26.2	1.7	37.7	0.1	57.89	1.88	86.0	0.6
p0071	w	hom	6	22.4	1.1	37.8	0.1	51.46	2.62	85.3	0.6
Palm	m	wt	7	30.1	0.5	36.8	0.1	49.00	2.56	78.9	0.9
Palm	m	hom	6	32.3	1.1	37.3	0.1	48.45	2.47	79.2	0.6
Palm	w	wt	7	22.8	0.7	37.2	0.1	45.63	3.14	78.9	0.5
Palm	w	hom	5	24.3	0.3	37.4	0.1	45.33	1.10	78.8	0.3
PK	m	wt	7	31.3	1.4	36.3	0.1	66.77	1.30	82.6	0.3
PK	m	hom	7	29.1	1.0	36.1	0.1	66.12	2.25	81.4	0.4
PK	w	wt	7	32.7	0.7	36.6	0.1	51.41	2.10	77.4	0.3
PK	w	hom	7	29.6	1.1	36.5	0.1	54.27	2.55	78.5	0.7
Popdc2	m	wt	5	40.7	2.3	37.1	0.1	85.72	5.79	87.0	0.8
Popdc2	m	hom	5	32.2	1.8	36.6	0.2	81.32	8.99	88.3	0.7
Popdc2	w	wt	6	35.0	3.3	37.2	0.1	50.00	6.05	85.1	1.1
Popdc2	w	hom	6	28.0	2.7	36.8	0.1	59.21	6.21	84.6	0.9
Ptdsr	m	wt	6	32.6	1.5	36.5	0.1	49.97	4.47	82.8	0.4
Ptdsr	m	het	6	30.5	0.3	36.7	0.1	49.37	5.02	84.1	0.4
Ptdsr	w	wt	7	24.3	1.0	37.2	0.1	52.06	2.11	82.0	0.2
Ptdsr	w	het	7	25.8	1.2	37.2	0.1	51.49	0.91	82.3	0.4
Ptpg	m	wt	5	27.2	0.6	37.1	0.2	67.57	3.85	84.3	0.2
Ptpg	m	hom	7	29.2	0.9	37.1	0.1	63.61	3.82	83.2	0.6
Ptpg	w	wt	6	21.3	0.3	36.8	0.1	36.87	4.39	81.5	0.9
Ptpg	w	hom	6	20.7	0.4	37.1	0.2	34.75	3.12	82.3	1.0
R1-KO	m	wt	7	36.5	1.5	35.5	0.2	48.70	3.79	76.4	0.4
R1-KO	m	hom	7	33.7	1.2	35.6	0.2	49.05	7.47	76.5	1.9
R1-KO	w	wt	7	29.9	1.7	35.8	0.1	46.24	3.14	83.7	0.7
R1-KO	w	hom	7	30.7	1.0	35.7	0.1	66.51	6.58	84.2	0.6
Sepp	m	wt	6	34.0	1.8	36.4	0.1	72.79	3.27	87.2	0.6
Sepp	m	het	6	35.0	0.6	36.3	0.1	57.09	1.70	88.0	0.3
Sepp	m	hom	3	21.3	1.1	35.7	0.2	61.70	1.31	88.7	0.5
Sepp	w	wt	5	25.5	2.0	37.0	0.2	66.88	4.13	86.0	0.6
Sepp	w	het	5	24.9	0.6	36.8	0.1	60.83	2.69	86.8	0.3
Sepp	w	hom	4	23.1	2.4	36.5	0.2	60.27	3.74	86.6	0.2
SIP	m	wt	7	45.2	3.0	36.6	0.1	77.60	3.93	82.4	0.5
SIP	m	het	4	40.5	2.3	36.9	0.1	69.10	4.77	82.2	0.5
SIP	w	wt	5	37.4	3.4	37.4	0.1	70.22	6.32	84.9	0.9
SIP	w	het	8	41.5	2.2	37.2	0.1	69.87	3.85	86.3	1.7
SMA005	m	wt	10	42.2	1.1	37.4	0.1	64.76	1.25	85.6	0.4
SMA005	m	het	10	29.9	1.4	38.0	0.1	69.12	1.50	84.6	0.2

SUMO 1	m	wt	7	38.1	1.1	36.2	0.2	69.88	5.62	81.7	0.6
SUMO 1	m	hom	7	37.9	1.1	36.4	0.1	66.14	7.20	79.6	1.2
SUMO 1	w	wt	6	30.5	2.4	36.3	0.1	56.03	7.80	81.7	2.9
SUMO 1	w	hom	7	33.7	2.0	36.5	0.1	56.52	6.37	83.8	0.9
Surf1	m	wt	6	32.0	0.4	37.9	0.2	64.78	3.34	75.9	1.2
Surf1	m	hom	7	31.4	1.0	37.8	0.2	66.69	2.51	77.1	0.5
Surf1	w	wt	6	27.7	1.8	37.3	0.2	67.42	11.17	78.3	1.6
Surf1	w	hom	7	24.0	0.7	37.6	0.1	49.55	2.59	77.4	0.3
TGFB	m	wt	7	30.1	1.0	36.5	0.1	43.30	2.50	77.4	0.5
TGFB	m	het	7	29.0	1.1	36.4	0.1	50.62	9.09	78.6	1.5
TGFB	m	hom	6	29.8	0.9	36.5	0.2	46.60	2.91	77.1	0.5
TGFB	w	wt	7	23.8	0.5	36.9	0.1	47.38	1.28	81.4	0.6
TGFB	w	het	7	24.0	0.6	37.1	0.1	44.88	4.74	79.5	1.9
TGFB	w	hom	5	24.0	0.8	36.8	0.4	45.78	2.59	80.9	0.9
Tp53	m	wt	6	32.0	1.5	36.2	0.2	66.05	3.84	81.1	0.6
Tp53	m	hom	5	31.3	1.1	36.1	0.2	62.42	3.66	80.9	0.5
Tp53	w	wt	7	23.7	0.4	36.8	0.1	64.59	2.02	85.8	0.6
Tp53	w	hom	7	23.5	0.7	36.6	0.1	66.78	2.40	85.9	0.6
Trm 1	m	wt	7	36.0	1.1	36.4	0.0	55.03	4.52	85.1	1.0
Trm 1	m	hom	7	34.7	1.5	36.4	0.1	61.11	7.22	87.7	3.1
Trm 1	w	wt	6	26.3	0.7	36.9	0.1	51.99	4.74	89.1	0.5
Trm 1	w	hom	7	26.4	1.0	36.9	0.1	52.49	3.95	87.3	0.3
UBB	m	wt	7	32.9	1.3	36.7	0.2	39.49	1.14	75.6	0.4
UBB	m	hom	7	33.5	0.7	36.5	0.1	40.85	1.86	76.8	0.3
UBB	w	wt	7	25.5	0.3	37.1	0.1	37.58	2.13	78.4	0.4
UBB	w	hom	7	25.5	0.8	37.0	0.1	35.88	3.79	80.1	0.9
UBB+1	m	wt	7	28.4	0.7	35.6	0.1	41.53	2.59	78.1	0.4
UBB+1	m	het	7	28.5	0.5	35.3	0.1	38.56	1.86	77.5	0.6
UBB+1	w	wt	6	22.1	0.6	35.9	0.1	45.74	1.03	81.6	0.5
UBB+1	w	het	7	22.6	0.3	35.8	0.1	41.56	1.81	81.2	0.7
Vimentin	m	wt	7	28.7	1.0	37.9	0.2	70.95	4.73	83.6	0.5
Vimentin	m	hom	7	28.3	0.7	37.6	0.1	62.19	2.36	83.5	0.3
Vimentin	w	wt	6	25.4	0.8	36.9	0.1	49.63	3.85	83.6	0.4
Vimentin	w	hom	7	23.3	0.5	37.0	0.1	43.46	1.80	83.9	0.3

Tab II:**Daten der MML unter Futterreduktion**

Mittelwerte und Standardfehler aller Mausmutantenlinien, die den *Primärscreen* der *GMC* durchlaufen haben. Körpergewicht (BM) und Körpertemperatur ($T_{b,rec}$).

Mäuse, die der chronischen Futterreduktion unterzogen wurden, sind normal gedruckt. Mäuse, die die akute Futterreduktion durchliefen sind fett dargestellt..

<i>Futterreduktion</i>				BM		$T_{b,rec}$	
Linie	Sex	Genotyp	n	MW	SEM	MW	SEM
ABE1	m	wt	7	33.7	1.0	34.2	0.1
ABE1	m	het	7	28.6	1.1	33.9	0.2
ABE1	w	wt	7	32.2	1.1	34.7	0.2
ABE1	w	het	7	28.0	0.9	34.5	0.2
ABE2	m	wt	7	30.5	1.5	36.5	0.2
ABE2	m	het	7	27.3	1.0	36.2	0.3
ABE2	w	wt	7	34.7	1.2	36.9	0.1
ABE2	w	het	7	25.4	1.5	36.2	0.1
ABE17	m	wt	32	32.1	0.8	36.5	0.2
ABE17	m	het	35	21.9	0.6	35.4	0.1
ABE17	w	wt	30	31.8	0.7	36.7	0.1
ABE17	w	het	37	17.8	0.4	35.2	0.2
AFP1	m	wt	7	32.2	0.8	34.2	0.9
AFP1	m	hom	7	34.4	1.6	35.4	0.4
AFP1	w	wt	7	26.6	0.8	35.1	0.6
AFP1	w	hom	6	27.4	1.8	34.9	1.2
Ali027	m	wt	7	30.1	0.6	37.9	0.2
Ali027	m	het	7	29.2	1.2	37.3	0.2
Ali027	w	wt	7	32.1	1.6	37.4	0.1
Ali027	w	het	6	30.3	1.2	37.2	0.2
ALI22	m	wt	7	29.1	1.2	36.5	0.2
ALI22	m	het	7	32.1	1.0	36.8	0.2
ALI22	w	wt	7	26.5	1.1	36.8	0.1
ALI22	w	het	7	30.0	0.5	36.9	0.1
ATE001	m	wt	7	33.3	1.1	35.1	0.2
ATE001	m	het	7	27.9	0.7	34.9	0.2
ATE001	w	wt	7	31.4	1.2	35.9	0.2
ATE001	w	het	7	26.5	1.2	35.7	0.2
ATE2	m	wt	6	34.2	1.0	34.9	0.3
ATE2	m	het	6	26.5	1.5	35.2	0.4
ATE2	w	wt	7	34.3	1.1	34.6	0.2
ATE2	w	het	7	26.3	2.6	33.8	0.4
C3H/Pde6b+	m	wt	7	31.3	0.9	35.9	0.2
C3H/Pde6b+	m	hom	7	28.0	0.9	34.6	0.2
C3H/Pde6b+	w	wt	7	29.5	0.9	36.1	0.2
C3H/Pde6b+	w	hom	7	28.0	0.9	34.6	0.2
CCR1/CCR5	m	wt	7	21.5	0.6	32.8	1.7
CCR1/CCR5	m	hom	7	22.0	0.4	34.6	0.4
CCR1/CCR5	w	wt	7	17.0	0.2	29.8	2.6
CCR1/CCR5	w	hom	7	16.7	0.3	28.5	2.3
Cin 85	m	wt	13	28.1	0.7	35.2	0.1
Cin 85	m	hom	13	27.8	1.1	35.1	0.4
Cin 85	w	wt	13	21.3	0.9	34.8	0.2
Cin 85	w	hom	13	20.9	0.6	34.7	0.5
Cs7	m	wt	7	23.5	0.9	35.7	0.4
Cs7	m	hom	7	23.8	0.7	34.6	0.5
Cs7	w	wt	7	18.1	0.3	32.9	1.3
Cs7	w	hom	7	19.3	0.7	32.8	1.0
Dea3	m	wt	6	34.8	0.9	36.5	0.1
Dea3	m	hom	6	30.7	1.9	36.1	0.1

Dea3	w	wt	7	30.8	1.4	36.2	0.2
Dea3	w	hom	6	33.8	1.7	36.1	0.1
Delta1	m	wt	7	25.1	0.6	34.7	0.2
Delta1	m	het	6	21.9	0.6	33.7	0.3
Delta1	w	wt	7	20.8	0.5	34.1	0.3
Delta1	w	het	7	18.8	0.5	33.9	0.3
DKK3	m	wt	5	28.9	0.8	36.6	0.2
DKK3	m	hom	6	26.7	1.9	36.7	0.1
DKK3	w	wt	7	22.8	1.1	36.2	0.1
DKK3	w	hom	6	23.2	1.1	36.5	0.2
DLG3	m	wt	6	27.5	2.1	35.2	0.2
DLG3	m	hom	6	25.8	1.6	35.1	0.1
DLG3	w	wt	6	18.9	0.8	34.6	0.3
DLG3	w	hom	5	19.0	0.6	34.9	0.3
Dll1	m	wt	7	29.7	0.6	35.4	0.1
Dll1	m	het	7	22.2	0.7	35.3	0.7
Dll1	w	wt	7	22.1	1.3	34.8	1.3
Dll1	w	het	5	17.8	0.8	33.3	1.4
DMBT1	m	wt	5	27.5	1.1	36.2	0.2
DMBT1	m	hom	7	27.4	1.6	35.7	0.2
DMBT1	w	wt	4	22.1	2.5	36.0	0.3
DMBT1	w	hom	4	22.7	2.4	35.6	0.4
DNaseX	m	wt	7	22.7	0.3	33.1	0.6
DNaseX	m	hom	6	25.5	1.5	34.3	0.4
DNaseX	w	wt	7	18.6	0.9	35.3	0.4
DNaseX	w	hom	7	18.9	0.6	35.7	0.3
Drasic	m	wt	7	25.3	1.0	35.8	0.3
Drasic	m	hom	7	21.1	0.8	35.5	0.3
Drasic	w	wt	6	18.4	0.7	33.0	0.3
Drasic	w	hom	7	17.1	0.4	34.3	0.6
Elastin	m	wt	6	20.5	0.1	35.5	0.2
Elastin	m	hom	7	20.3	0.6	35.4	0.1
EPS8	m	wt	7	22.2	0.4	36.5	0.3
EPS8	m	hom	7	21.6	0.6	36.3	0.2
EPS8	w	wt	7	17.3	0.5	34.2	0.7
EPS8	w	hom	6	16.2	0.4	36.4	0.6
ESCP	m	wt	7	31.3	0.7	35.2	0.1
ESCP	m	hom	7	34.6	1.6	35.1	0.1
ESCP	w	wt	7	22.1	1.5	33.9	0.6
ESCP	w	hom	7	24.6	1.6	34.2	0.5
Eya3	m	wt	6	20.5	0.6	35.2	0.5
Eya3	m	hom	6	18.8	0.7	31.4	1.3
Eya3	w	wt	7	15.8	0.6	29.7	0.8
Eya3	w	hom	6	15.5	0.5	31.9	0.9
EYL	m	wt	7	26.2	1.2	36.0	0.2
EYL	m	hom	6	21.8	1.4	36.2	0.8
EYL	w	wt	6	30.9	1.6	37.1	0.1
EYL	w	hom	6	18.3	0.8	35.9	1.1
FasL	m	wt	7	23.8	0.3	34.4	0.4
FasL	m	hom	7	25.0	1.7	35.1	0.3
FasL	w	wt	7	17.2	0.3	33.7	0.5
FasL	w	hom	7	18.6	0.5	34.7	0.6
Fin13	m	wt	6	26.4	1.2	34.4	0.3
Fin13	m	hom	7	26.8	1.3	34.7	0.3
Fin13	w	wt	7	24.2	1.3	34.3	0.7
Fin13	w	wt	8	19.0	1.4	32.3	0.8
FoxP2	m	wt	7	24.2	0.5	34.7	0.2
FoxP2	m	hom	7	24.5	1.0	34.2	0.4
FoxP2	w	wt	5	20.3	0.6	33.3	0.8

FoxP2	w	hom	4	20.8	0.9	34.3	0.8
GAMT167	m	wt	10	23.8	0.4	34.0	0.4
GAMT167	m	hom	10	21.6	0.6	34.0	0.3
GAMT167	w	wt	4	20.0	0.8	35.3	0.1
GAMT167	w	hom	7	16.4	0.4	34.7	0.4
GSK3beta	m	wt	7	24.9	0.7	33.1	0.5
GSK3beta	m	hom	7	21.2	0.4	34.9	0.3
GSK3beta	w	wt	6	20.4	0.9	32.1	1.3
GSK3beta	w	hom	7	15.2	0.9	32.3	0.7
HDAC2	w	wt	7	18.9	1.6	33.5	0.4
HDAC2	w	hom	7	17.3	1.2	30.0	1.0
HDAC2	m	wt	6	27.7	1.1	34.5	0.2
HDAC2	m	hom	6	19.7	0.8	30.9	0.6
HDS17B7	m	wt	7	27.1	0.6	34.4	0.2
HDS17B7	m	het	7	26.3	1.1	34.5	0.2
HDS17B7	w	wt	7	22.7	2.0	33.3	0.7
HDS17B7	w	het	6	19.6	0.8	32.5	1.3
HSD17B2	m	wt	7	27.9	1.0	34.3	0.7
HSD17B2	m	het	7	30.0	1.3	34.5	0.3
HSD17B2	w	wt	7	21.4	0.2	33.4	0.9
HSD17B2	w	het	7	22.0	0.8	33.3	1.4
HST001	m	wt	7	31.3	1.0	36.0	0.1
HST001	m	het	7	22.3	1.1	33.8	0.7
HST001	w	wt	7	30.5	2.1	36.5	0.1
HST001	w	het	7	18.9	0.5	33.6	0.5
KTA041	m	wt	7	35.0	0.9	35.6	0.1
KTA041	m	hom	5	22.6	0.7	35.4	0.5
KTA041	w	wt	7	31.7	1.3	36.5	0.1
KTA041	w	hom	6	22.2	1.4	36.2	0.2
MAG	m	wt	9	22.9	0.9	34.6	0.2
MAG	m	hom	9	22.1	0.5	34.7	0.2
MAG	w	wt	6	18.3	0.8	33.3	0.5
MAG	w	hom	10	18.0	0.6	34.7	0.5
Mchr1	m	wt	7	25.2	1.1	35.4	0.4
Mchr1	m	hom	6	25.7	1.9	35.7	0.5
Mchr1	w	wt	6	21.7	0.2	35.4	0.1
Mchr1	w	hom	5	19.7	0.3	35.7	0.4
MCT8	m	wt	7	28.7	1.0	34.1	0.6
MCT8	m	hom	6	27.1	1.7	32.1	0.8
MCT8	w	wt	7	20.8	0.8	34.2	0.9
MCT8	w	hom	7	19.6	0.5	31.9	1.0
Medane1	m	wt	10	27.8	0.5	33.8	0.1
Medane1	m	hom	7	22.8	1.1	33.0	0.2
Medane1	w	wt	8	21.6	0.9	34.3	0.5
Medane1	w	hom	6	20.9	1.4	34.5	0.5
MFP2	w	wt	12	24.3	0.8	36.7	0.3
MFP2	w	hom	13	18.8	0.7	36.2	0.1
MFP2	m	wt	15	31.4	2.0	36.6	0.3
MFP2	m	hom	14	21.7	0.7	34.7	0.5
Miz1	m	wt	7	23.2	1.0	34.7	0.3
Miz1	m	hom	4	22.5	1.1	35.4	0.2
Miz1	w	wt	6	18.9	0.8	34.9	0.3
Miz1	w	hom	7	17.8	0.5	35.2	0.3
MTO1	m	wt	7	26.4	1.5	34.9	0.5
MTO1	m	hom	7	22.2	0.8	34.5	0.6
MTO1	w	wt	6	19.6	1.2	35.1	1.3
MTO1	w	hom	6	17.8	1.6	35.2	0.9
NADH	m	wt	7	28.2	1.0	35.2	0.2
NADH	m	hom	7	26.3	1.9	35.0	0.4

NADH	w	wt	7	20.1	0.5	34.8	0.3
NADH	w	hom	6	19.7	0.5	34.9	0.6
NCAM	m	wt	8	29.0	1.5	35.3	0.3
NCAM	m	het	6	22.9	0.8	33.3	0.9
NCAM	m	hom	8	23.5	1.0	34.5	0.3
NCAM	w	wt	14	19.4	0.5	35.1	0.5
NCAM	w	het	3	19.4	0.4	32.1	0.2
NCAM	w	hom	8	17.3	0.6	34.6	0.3
Nes-Cre	w	wt	6	18.5	1.0	35.4	0.3
Nes-Cre	w	hom	7	20.1	2.1	34.6	0.7
Neuch	m	wt	7	24.6	1.0	34.1	0.3
Neuch	m	het	9	26.0	1.1	34.0	0.3
Neuch	m	hom	8	20.4	1.4	34.5	0.2
Neuch	w	wt	3	23.7	3.4	35.8	0.4
Neuch	w	het	7	23.0	1.6	35.4	0.4
Neuch	w	hom	6	17.5	0.9	34.6	0.6
p0071	m	wt	6	23.9	0.8	37.0	0.1
p0071	m	hom	6	24.4	1.2	37.0	0.1
p0071	w	wt	6	21.3	1.4	35.8	0.3
p0071	w	hom	6	19.0	1.1	35.8	0.4
Palm	m	wt	7	24.3	0.4	34.8	0.3
Palm	m	hom	6	26.0	0.9	34.8	0.3
Palm	w	wt	7	18.0	0.7	32.9	0.5
Palm	w	hom	5	19.5	0.2	33.2	0.5
PK	m	wt	7	26.3	1.2	34.5	0.1
PK	m	hom	7	24.2	0.8	35.1	0.3
PK	w	wt	7	28.0	0.8	35.0	0.4
PK	w	hom	7	25.2	1.1	34.7	0.3
Popdc2	m	wt	5	34.9	1.8	36.5	0.2
Popdc2	m	hom	5	28.2	1.4	35.2	0.4
Popdc2	w	wt	6	29.5	3.3	36.2	0.5
Popdc2	w	hom	6	23.6	2.5	35.5	0.3
Ptdsr	m	wt	6	27.0	1.8	35.0	0.3
Ptdsr	m	het	6	25.1	0.9	34.3	0.5
Ptdsr	w	wt	7	20.7	0.9	34.7	0.4
Ptdsr	w	het	7	21.6	1.2	34.9	0.3
Ptpg	m	wt	5	23.8	0.6	34.9	0.7
Ptpg	m	hom	7	24.5	0.8	34.9	0.2
Ptpg	w	wt	6	16.9	0.4	34.7	0.3
Ptpg	w	hom	6	16.4	0.6	33.2	0.9
Sepp	m	wt	6	28.5	1.7	35.2	0.2
Sepp	m	het	6	28.1	0.7	35.8	0.3
Sepp	m	hom	3	17.5	0.8	33.6	0.4
Sepp	w	wt	5	20.8	1.4	35.2	0.4
Sepp	w	het	5	20.4	0.5	35.2	0.2
Sepp	w	hom	4	17.4	1.8	34.5	0.8
SIP	m	wt	7	39.5	2.4	36.0	0.2
SIP	m	het	4	34.9	1.9	35.6	0.3
SIP	w	wt	5	33.6	2.7	36.6	0.1
SIP	w	het	8	35.9	1.9	36.4	0.2
SMA005	m	wt	10	36.7	0.9	36.5	0.1
SMA005	m	het	10	24.3	1.0	35.5	0.2
SUMO 1	m	wt	7	32.8	0.9	34.1	0.4
SUMO 1	m	hom	7	31.8	1.1	33.8	0.5
SUMO 1	w	wt	6	25.2	2.2	34.7	0.7
SUMO 1	w	hom	7	27.9	1.7	34.3	0.3
Surf1	m	wt	6	23.8	0.2	30.7	1.8
Surf1	m	hom	7	23.5	0.8	30.9	1.7
Surf1	w	wt	6	21.2	1.4	28.5	1.7

Surf1	w	hom	7	18.3	0.5	30.2	1.8
TGFB	m	wt	7	25.5	0.7	34.5	0.2
TGFB	m	het	7	24.0	1.0	34.4	0.4
TGFB	m	hom	6	25.3	0.8	34.8	0.1
TGFB	w	wt	7	19.5	0.3	32.1	1.0
TGFB	w	het	7	20.0	0.4	29.8	0.4
TGFB	w	hom	5	20.1	0.5	31.7	1.5
Tp53	m	wt	6	26.5	1.5	34.2	1.1
Tp53	m	hom	5	27.2	0.8	34.2	0.3
Tp53	w	wt	7	19.5	0.4	34.1	0.6
Tp53	w	hom	7	19.3	0.8	33.1	0.4
Trm 1	m	wt	7	30.9	1.1	35.6	0.4
Trm 1	m	hom	7	30.3	1.2	35.3	0.2
Trm 1	w	wt	6	22.7	1.2	35.8	0.2
Trm 1	w	hom	7	22.2	1.4	35.9	0.3
UBB	m	wt	7	26.3	1.1	32.8	0.2
UBB	m	hom	7	27.9	0.6	33.5	0.4
UBB	w	wt	7	20.4	0.3	34.1	0.6
UBB	w	hom	7	20.8	0.6	34.7	0.7
Vimentin	m	wt	7	25.7	1.3	36.0	0.3
Vimentin	m	hom	7	24.5	0.7	35.6	0.3
Vimentin	w	wt	6	21.5	1.1	36.0	0.2
Vimentin	w	hom	7	18.9	0.4	36.1	0.2

Danksagung

Mein erster Dank gilt Professor Dr. Gerhard Heldmaier und HD Dr. Martin Klingenspor für die Überlassung dieses spannenden Themas und für die gute Betreuung auch über die große räumliche Distanz hinweg. Für die Möglichkeit im metabolischen Labor der *GMC* mitarbeiten zu können und die damit verbundenen positiven Erfahrungen möchte ich mich ebenfalls bedanken.

Bei Dr. Jan Rozman und Dr. Ralf Elvert möchte ich mich sehr herzlich für ihre gute Betreuung bedanken, ganz besonders dafür, dass sie sich immer auch kurzfristig Zeit für mich genommen und mich stets mit Rat und Tat unterstützt haben. An Jan geht mein besonderer Dank für seine Fähigkeit kleinere und größere Katastrophen stets mit Geduld und Gelassenheit abzufangen, an Ralf dafür, dass er auch nach Ende seiner Arbeitszeit an der *GMC* immer noch `da` war.

Ein riesengroßer Dank geht auch an Ann-Elisabeth Schwarz, Martin Taube und Monja Willershäuser für ihr Hilfe, viele Anregungen, die tolle Zusammenarbeit und den Spaß, den wir im Labor hatten. Ohne Euch wäre die Zeit an der *GMC* sicher nur halb so schön gewesen!

Beim gesamten Team der *GMC* möchte ich mich für die herzliche Aufnahme und die gute Zusammenarbeit bedanken. Hierbei gilt mein besonderer Dank Dr. Birgit Rathkolb, Dr. Martina Klempt und Elfi Holupirek für die Bestimmung der Blutparameter und die Unterstützung bei deren Auswertung. Auch bei Helmut Fuchs möchte ich mich besonders für die Überlassung der Mausmutantenlinie HWE007 bedanken. Den Tierpflegern der *GMC* danke ich für die gute Pflege der Mäuse und ihre Unterstützung bei der Zucht meiner Mäuse. Dem Team des B-Streifens danke ich für die Aufzucht und das Wiegen der zweiten HWE007-Gruppe.

Bei Brigitte Kühnel möchte ich mich für die statistische Beratung bedanken.

Auch bei den Arbeitsgruppen in Marburg und Freising möchte ich mich für die herzliche Aufnahme und die wertvollen Anregungen bedanken.

Bei Dr. Jan Rozman, Dr. Ralf Elvert, Dr. Anja Schrewe und Monja Willershäuser möchte ich mich ganz herzlich für das Korrekturlesen dieser Arbeit bedanken.

Bei meinen Freunden möchte ich mich für ihre gute Freundschaft über viele Jahre bedanken. Ihr seid etwas Besonderes!

Mein größter Dank gilt meiner großartigen Familie für ihre Unterstützung und ihr Verständnis in allen Lebenslagen. Ohne Euch wäre vieles nicht möglich gewesen!

Erklärung

Ich versichere, dass ich meine Dissertation

„Metabolische Phänotypisierung von Mausmutantenlinien im Rahmen des metabolischen Labors der Deutschen Mauseklinik“

selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe.

Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

Marburg, den 15.07.2008

Nicole Ehrhardt

Curriculum vitae

Nicole Ehrhardt

Adresse: Helmholtz-Zentrum München
IEG / GMC / Metabolischer Screen
85764 Neuherberg
Telefon: +49 89 3187 3648
E-mail: Nicole.Ehrhardt@gmx.de

Persönliche Daten

Geburtsdatum und -ort: 02.01.1977, Marburg/Lahn

Familienstand: ledig

Ausbildungsdaten

Schulbildung

1983-1987 Grundschule Kirchhain

1987-1996 Alfred-Wegener-Schule Kirchhain; Abschluss: Abitur

Studium

1996-2002 Studium der Biologie (Diplom) an der Philipps-Universität Marburg
Diplomarbeit mit dem Titel „Anpassungsstrategien der goldenen Stachelmaus *Acomys russatus* an Futterreduktion: Einfluss auf Körpergewicht, Körpertemperatur, Stoffwechselrate und Aktivität“ in der Arbeitsgruppe Stoffwechselphysiologie (Prof. Dr. Heldmaier, HD Dr. Klingenspor).

Seit 2003 Promotion im metabolischen Labor der Deutschen Mauslinik, Neuherberg

Studentische Hilfskraft

2000-2001 Mitarbeit im Projekt „Verhaltensbeobachtungen beim Alpenmurmeltier *Marmota marmota*“

2001 Tierpflegerververtretung im Tierbestand der AG Stoffwechselphysiologie

2000-2002 Tutorin im Tierphysiologischen Grundkurs (Thema: Verdauung)

Wissenschaftliche Mitarbeiterin

2002-2003 AG Stoffwechselphysiologie, Philipps-Universität Marburg

Kurse

2000 Versuchstierkunde (gemäß den Bestimmungen der FELASA)

2007 Grundkurs Zellbiologie

Auszeichnung

2006 Posterpreis der Jahrestagung der Deutschen Adipositasgesellschaft

Veröffentlichungen

Kallnik M, Elvert R, **Ehrhardt N**, Kissling D, Mahabir E, Welzl G, Faus-Kessler T, Hrabé de Angelis M, Wurst W, Schmidt J, Holter SM.

Impact of IVC housing on emotionality and fear learning in male C3HeB/FeJ and C57BL/6J mice.

Mamm Genome. 2007 Mar;18(3):173-86.

Meyer CW, Elvert R, Scherag A, **Ehrhardt N**, Gailus-Durner V, Fuchs H, Schafer H, Hrabé de Angelis M, Heldmaier G, Klingenspor M.

Power matters in closing the phenotyping gap.

Naturwissenschaften. 2007 May;94(5):401-6.

Elvert R, **Ehrhardt N**, Taube M, Klingenspor M, Gailus-Durner V, Fuchs H, Hrabé de Angelis M, Blanquet V, Heldmaier G.

Metabolic phenotyping of mouse mutants in the German Mouse Clinic.

Integrative Zoology. 2006 Sep;1(3):122-125

Gailus-Durner V, Fuchs H, Becker L, Bolle I, Brielmeier M, Calzada-Wack J, Elvert R, **Ehrhardt N**, Dalke C, Franz TJ, Grundner-Culemann E, Hammelbacher S, Holter SM, Holzlwimmer G, Horsch M, Javaheri A, Kalaydjiev SV, Klempt M, Kling E, Kunder S, Lengger C, Lisse T, Mijalski T, Naton B, Pedersen V, Prehn C, Przemeck G, Racz I, Reinhard C, Reitmeir P, Schneider I, Schrewe A, Steinkamp R, Zybill C, Adamski J, Beckers J, Behrendt H, Favor J, Graw J, Heldmaier G, Hofler H, Ivandic B, Katus H, Kirchhof P, Klingenspor M, Klopstock T, Lengeling A, Muller W, Ohl F, Ollert M, Quintanilla-Martinez L, Schmidt J, Schulz H, Wolf E, Wurst W, Zimmer A, Busch DH, Hrabé de Angelis M.

Introducing the German Mouse Clinic: open access platform for standardized phenotyping.

Nat Methods. 2005 Jun;2(6):403-4.

Ehrhardt N, Heldmaier G, Exner C.

Adaptive mechanisms during food restriction in *Acomys russatus*: the use of torpor for desert survival.

J Comp Physiol [B]. 2005 Apr;175(3):193-200.

Marburg, Juli 2008

Nicole Ehrhardt